

SÉRIE A, N° 1601

N° D'ORDRE : 2467

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

CH. ROUSSEAU

1^{re} Thèse. — *HISTOPHYSIOLOGIE DU FOIE DES ÉOLIDIENS.*

ÉTUDE DE LEURS XANTHELLES. CYTOLOGIE DES CELLULES
NÉMATOPHAGES.

2^e Thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8 FEV 1936, devant la Commission d'examen

MM. CAULLERY, *Président.*

PORTIER }
PRENANT } *Examineurs.*

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS, VI^e

1936

SÉRIE A, N° 1601

N° D'ORDRE : 2467

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

CH. ROUSSEAU

1^{re} Thèse. — *HISTOPHYSIOLOGIE DU FOIE DES ÉOLIDIENS.*

ÉTUDE DE LEURS XANTHELLES. CYTOLOGIE DES CELLULES
NÉMATOPHAGES.

2^e Thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

_____, devant la Commission d'examen

MM. CAULLERY, *Président.*

PORTIER }
PRENANT } *Examineurs.*

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS, VI^e

===== 1936 =====

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire. . . . M. MOLLIARD.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

Professeurs honoraires.

H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
Émile PICARD.
Rémy PERRIB.

LÉON BRILLOUIN.
GOURSAT.
WALLERANT.
GUILLET.
PÉCHABD.
FREUNDLER.

AUGER.
BLAISE.
DANGEARD.
JANET.
LESPIEAU.
MARCHIS.
VESSIOT.

PROFESSEURS

G. BERTRAND . . . T Chimie biologique.
M. CAULLERY . . . T Zoologie (Évolution des
êtres organisés).
G. URBAIN T Chimie générale.
Émile BOREL . . . T Calcul des probabilités et
Physique mathématique.
Jean PERRIN . . . T Chimie physique.
H. ABRAHAM . . . T Physique.
E. CARTAN T Géométrie supérieure.
M. MOLLIARD . . . T Physiologie végétale.
L. LAPICQUE . . . T Physiologie générale.
E. VESSIOT T Mécanique analytique et
Mécanique céleste.
A. COTTON T Recherches physiques.
J. DRACH T Analyse supérieure et
algèbre supérieure.
Charles FABRY . . T Enseignement de Physique.
Charles PÉREZ . . . T Zoologie.
Léon BERTRAND . T Géologie structurale et
géologie appliquée.
P. PORTIER T Physiologie comparée.
E. RABAUD T Biologie expérimentale.
M. GUICHARD . . . Chimie minérale.
Paul MONTEL . . . T Théorie des fonctions et
Théorie des transfor-
mations.
P. WINTREBERT . T Anatomie et histologie
comparées.
L. BLARINGHEM . T Botanique.
O. DUBOSCQ T Biologie maritime.
G. JULIA T Application de l'analyse
à la Géométrie.
C. MAUGUIN T Minéralogie.
A. MICHEL-LÉVY . T Pétrographie.
H. BÉNARD T Mécanique expérimentale
des fluides.
A. DENJOY T Calcul différentiel et cal-
cul intégral.
L. LUTAUD T Géographie physique et
géologie dynamique.
Eugène BLOCH . . T Physique théorique et
physique céleste.
G. BRUHAT Physique.
E. DARMOIS Physique.
A. DEBIERNE . . . T Radioactivité.

A. DUFOUR T Physique (P. C. B.).
L. DUNOYER Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND T Botanique (P. C. B.).
M. JAVILLIER . . . Chimie biologique.
L. JOLEAUD Paléontologie.
ROBERT-LÉVY . . . Zoologie.
F. PICARD Zoologie (Évolution d
êtres organisés).
Henri VILLAT . . . T Mécanique des fluides
applications.
Ch. JACOB T Géologie.
P. PASCAL T Chimie minérale.
M. FRÉCHET T Calcul des Probabilités
Physique mathématique.
E. ESCLANGON . . T Astronomie.
M^{me} RAMART-LUCAS T Chimie organique.
H. BÉGHIN T Mécanique physique
expérimentale.
FOCH Mécanique expérimentale
des fluides.
PAUTHENIER Physique (P. C. B.).
DE BROGLIE T Théories physiques.
CHRÉTIEN Optique appliquée.
P. JOB Chimie générale.
LABROUSTE Physique du Globe.
PRENANT Zoologie.
VILLEY Mécanique physique
expérimentale.
BOHN Zoologie (P. C. B.).
COMBES Botanique.
GARNIER Calcul différentiel.
PÈRÈS Mécanique des fluides.
HACKSPILL Chimie (P. C. B.).
LAUGIER Physiologie générale.
TOUSSAINT Technique aéronautique.
M. CURIE Physique (P. C. B.).
G. RIBAUD T Hautes températures.
CHAZY T Mécanique rationnelle.
GAULT Chimie (P. C. B.).
CROZE Physique.
DUPONT T Théories chimiques.
LANQUINE Géologie.
VALIRON Mathématiques.
BARRABÉ Géologie structurale
géologie appliquée.
MILLOT Zoologie (P. C. B.).
F. PERRIN Théories physiques.
VAVON Chimie organique.

Secrétaire A. PACAUD.

Secrétaire honoraire D. TOMBECK.



HISTOPHYSIOLOGIE DU FOIE DES ÉOLIDIENS ÉTUDE DE LEURS XANTHELLES CYTOLOGIE DES CELLULES NÉMATOPHAGES

Par Ch. ROUSSEAU

SOMMAIRE

INTRODUCTION	306
TECHNIQUES ET MATÉRIEL	307
CHAPITRE PREMIER. — CYTOLOGIE ET HISTOPHYSIOLOGIE DU FOIE	309
Historique	309
Recherches personnelles	311
A. <i>Xanthinocytes</i>	311
B. <i>Cellules vacuolaires</i>	324
C. <i>Cellules hépatiques</i>	331
D. <i>Cellules indifférentes</i>	336
E. <i>Variations morphologiques</i>	337
CHAPITRE II. — PHYSIOLOGIE DU FOIE	340
Historique	340
Recherches personnelles	341
A. <i>Fonction sécrétrice (diastases)</i>	341
B. <i>Fonction absorbante</i>	346
C. <i>Fonction excrétrice</i>	350
D. <i>Propriétés phagocytaires et digestion intracellulaire</i>	351
E. <i>Fonction de réserve</i>	353
CHAPITRE III. — XANTHELLES	354
Historique	354
Recherches personnelles	356
A. <i>Cytologie des Xanthelles d'<i>Æ. glauca</i></i>	356
B. <i>Symbiose des Xanthelles et des Eolidiens</i>	366
C. <i>Les Xanthelles chez diverses espèces d'Eolidiens</i>	374
D. <i>Position systématique des Xanthelles</i>	375
CHAPITRE IV. — CELLULES NÉMATOPHAGES	376
Historique	376
Recherches personnelles	379
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	390
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	392

INTRODUCTION

Dans les travaux relatifs à l'anatomie des Nudibranches et dont les principaux sont ceux de **Alder** et **Hancock** (1845-1855), de **Bergh** (1864-1888), de **Trinchese** (1874-1890), de **Vayssière** (1888-1919), on ne trouve que des données éparses et incomplètes sur l'histologie des divers organes. **Herdman** (1886-1890), **Davenport** (1893), **Frenzel** (1885-1893), etc... ont donné quelques renseignements sur l'anatomie, l'histologie et la physiologie de ces Mollusques. **Hecht** (1895) a décrit avec assez de détails la structure de quelques organes tels que le rein, l'intestin, les cæcums hépatiques et le cnidosac. Il a étudié aussi l'excrétion et l'absorption intestinale. C'est à **Henneguy** (1925) que l'on doit une très belle étude histologique des Nudibranches.

Malgré tous ces travaux, il reste, dans l'histoire des Nudibranches, des points encore peu étudiés, aussi bien du point de vue cytologique que des points de vue physiologique et biologique.

En ce qui concerne les Éolidiens, on n'a jamais fait de recherches spéciales sur la cytologie et la physiologie du tissu hépatique; les Xanthelles qui vivent dans ce tissu, la symbiose de ces Algues avec les Éolidiens, la cytologie fine des cellules nématophages, cellules que l'on peut considérer comme étant des cellules hépatiques adaptées à une nouvelle fonction, ne sont pas bien connues également. Ce sont ces points que je me suis proposé d'étudier dans ce mémoire.

*
* *
*

La plus grande partie de mes recherches a été faite au laboratoire de Biologie marine du Croisic, dirigé par M. le Pr **A. Labbé**.

Au début de ce travail, je me fais un agréable devoir d'adresser l'expression de ma vive reconnaissance à mon Maître, M. le Pr **A. Labbé** à qui je dois l'inspiration de mon sujet. Son accueil bienveillant, ses précieux conseils, ses encouragements continuels m'ont été très utiles au cours de mes recherches.

J'exprime ma respectueuse gratitude à M. le Pr **M. Caullery**, membre de l'Institut, qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

TECHNIQUES ET MATÉRIEL

J'ai utilisé les procédés de fixation et de coloration les plus variés selon les diverses cellules étudiées. Les techniques employées pour les recherches physiologiques seront indiquées au chapitre réservé à la physiologie du foie.

1° *Techniques histologiques et cytologiques.* — Pour la topographie, l'analyse chromatique, la caryocinèse et aussi, dans certains cas, pour l'étude des inclusions cytoplasmiques, je me suis servi des liquides fixateurs de Zenker, de Bouin, de Bouin-Hollande, de Duboscq-Brasil. Les coupes ainsi fixées ont été colorées par l'hémalun-éosine, l'hématoxyline au fer de Regaud suivie ou non de la coloration à l'éosine ou à l'érythrosine, par la safranine-vert lumière, le cristal-violet-vert lumière, par le trichromique de P. Masson, le trichromique de Mallory, l'hématoxyline phosphotungstique de Mallory. Après les fixateurs acides cités plus haut, sauf le Flemming, j'ai souvent utilisé aussi le colorant de Giemsa, le panchrome de Laveran et le procédé de Pappenheim.

Les techniques mitochondriales employées ont été celles de Regaud, de Dietrich-Parat, de Benoit (B. O. S. U.) et exceptionnellement celle de Benda. La fixation par le Dietrich-Parat a été suivie de la coloration Volkonsky; la fixation au Benoit a été suivie de la coloration à la fuchsine-vert lumière ou simplement de la fuchsine-aurantia, ou encore, mais plus rarement, du Volkonsky. Dans quelques cas, les pièces fixées au Regaud, au lieu d'être colorées par l'hématoxyline au fer, l'ont été par la méthode de Volkonsky.

Les imprégnations argentiques ont été réalisées à l'aide de la technique de Da Fano, les imprégnations osmiques à l'aide de celle de Mann-Kopsch.

Les colorations vitales ont été pratiquées au moyen du rouge neutre en solution très diluée dans de l'eau de mer pour la mise en évidence du vacuome. Le vert Janus B utilisé comme colorant post-vital permet, comme l'on sait, de colorer électivement le chondriome.

Quel que soit l'élément cellulaire étudié, j'ai toujours employé concurremment ces diverses techniques.

2° *Techniques histochimiques.* — a) *Lipoïdes.* — Ils ont été recherchés au moyen de la technique de Dietrich-Parat (1926) que l'on peut effectuer de deux façons : après fixation au Dietrich-Parat, on colore soit par l'hématoxyline de Kultschitzky, soit par le soudan III. J'ai utilisé aussi l'acide osmique pour les pièces fixées, le rouge neutre et le bleu de Nil en colorations vitales.

b) *Graisses neutres.* — Elles ont été mises en évidence par l'acide osmique après fixation au formol à 10 p. 100 dans l'eau de mer, ou encore en prolongeant les fixations au Flemming ou au Benoit.

c) *Glycogène.* — Il a été recherché en colorant les coupes à la gomme iodée ou au carmin de Best, après fixation à l'alcool absolu ou au Carnoy, ainsi que par la méthode de Vastarini-Cresi.

d) *Substances du groupe de la purine.* — Pour la détection des corps puriques, notamment des bases xanthiques, j'ai pratiqué des réactions de solubilité sur coupe (voir p. 315). La méthode microchimique de Courmont et André (1904) a été employée aussi. On sait que cette technique permet de déceler les corps puriques, en particulier l'acide urique, mais elle n'est pas absolument spécifique.

* * *

Mes recherches ont porté sur les espèces suivantes : *Æolidiella glauca* Alder et Hancock, *Æolidiella croisicensis* Labbé, *Æolidia papillosa* Linné, *Berghia margaritæ* Labbé, *Spurilla neapolitana* Delle-Chiaje, *Coryphella Landsburgii* Alder et Hancock, *Favorinus albus* Alder et Hancock, *Cuthona aurantiaca* Alder et Hancock, *Acanthopsole coronata* Forbes, *Acanthopsole Schwobi* Labbé, *Acanthopsole pselliotes* Labbé et *Janolus hyalinus* Alder et Hancock.

Toutes ces espèces ont été capturées au Croisic. Elles n'y sont pas toutes également fréquentes ; l'espèce de beaucoup la plus commune est *Æ. glauca*, aussi la plupart de mes recherches cytologiques et expérimentales ont-elles été faites sur des individus lui appartenant.

CHAPITRE PREMIER

CYTOLOGIE ET HISTOPHYSIOLOGIE DU FOIE

HISTORIQUE

Le foie des Mollusques, ou hépatopancréas, a été étudié par de nombreux auteurs : **Barfurth**, **Frenzel**, **Cuénot**, **Hecht**, **Enriques**, etc.

Barfurth (1883) et **Frenzel** (1885) ont décrit trois sortes de cellules : 1° des cellules à vacuoles renfermant des nodules bruns plus ou moins volumineux. Pour ces auteurs, ce sont les cellules qui sécrètent les diastases digestives (*Fermentzellen* de **Barfurth**, *Keulenzellen* de **Frenzel**).

2° Des cellules à protoplasme vacuolaire dont les vacuoles renferment des petits granules. Ce sont des cellules excrétrices. Elles rejettent leurs granulations dans l'intestin et elles ne jouent aucun rôle dans la digestion (*Leberzellen* de **Barfurth**, *Körnerzellen* de **Frenzel**).

3° Des *Kalkzellen*, ou cellules à granules de phosphate de chaux. Ces dernières cellules ne se trouvent pas chez les Éolidiens.

Cuénot (1892), par la méthode des injections physiologiques, est arrivé à des résultats juste opposés à ceux des deux auteurs précédents. Le foie a bien deux fonctions différentes, une fonction digestive et une fonction excrétrice, mais les ferments digestifs sont sécrétés par les *Leberzellen*, tandis que les cellules excrétrices sont les *Fermentzellen*. Les *Leberzellen* sont appelées *cellules hépathiques* par **Cuénot**. Cet auteur a trouvé chez la plupart des Pulmonés deux sortes de cellules excrétrices qui diffèrent à la fois par leur structure et leurs propriétés : les *Fermentzellen* ou cellules vacuolaires, et les *cellules cyanophiles*. A la suite des injections physiologiques, les premières excrètent la fuchsine, le carmin d'indigo, etc., les secondes rejettent le dahlia.

Hecht (1895) a reconnu dans le foie des Nudibranches (*Doris tuberculata*, *Eolis glauca*, *Eolis papillosa*) quatre types de cellules :

1° Des cellules vacuolaires excrétrices (*Fermentzellen*, *Keulen-*

zellen) caractérisées par leurs grandes dimensions et leurs vacuoles contenant chacune une granulation; les vacuoles se colorent à la suite des injections physiologiques.

2° Des cellules excrétrices à grosses sphères brunes (*Leberzellen*, *Körnerzellen*) caractérisées par un petit nombre de grosses sphères brunes renfermant des cristaux et des granulations irrégulières.

3° Des cellules à ferments caractérisées par la présence de petites vésicules sans granulations et leur coloration en gris par les réactifs osmiques.

4° Des cellules indifférentes qui pourraient évoluer dans un sens ou dans l'autre.

Hecht est arrivé à ce résultat en employant la méthode des coupes et des injections physiologiques.

Henneguy (1925) n'a pas fait une étude spéciale du tissu hépatique des Éolidiens. Cependant il apporte des faits nouveaux, remarquant qu'on ne trouve pas toujours sur les coupes les diverses catégories de cellules établies par **Hecht**. Chez *Coryphella* et *Calma*, toutes les cellules sont semblables, leur protoplasme est vacuolaire. Chez *Fiona*, *Favorinus* et *Cuthona*, il y a deux sortes de cellules hépatiques, celles à gros noyau correspondant aux cellules indifférentes de **Hecht**. Chez *Cuthona* et *Æolidiella*, les cellules hépatiques renferment de grandes vacuoles dans lesquelles se trouvent des concrétions formées de couches concentriques. Dans certaines cellules, principalement chez *Æolidiella*, il y a trois sortes d'inclusions, basophiles, acidophiles et d'autres qui se colorent en bleu ou en vert par le trichromique de Masson. Il fait remarquer que les cellules hépatiques sont ciliées. Enfin il signale chez *Spurilla neapolitana*, *Favorinus* et *Æ. glauca*, des corpuscules jaunes et arrondis dont il n'a pu déterminer la nature.

J'ai montré (1931) que ces corps jaunes, vus déjà par **Hecht**, et pris par cet auteur pour des produits d'excrétion, étaient des Zooxanthelles.

En résumé, le foie des Éolidiens est donc imparfaitement connu, aucun auteur n'ayant fait une étude méthodique du tissu hépatique de ces Nudibranches. La cytologie n'a jamais été décrite et on n'a pas fait de recherches histochimiques.

RECHERCHES PERSONNELLES

Les recherches cytologiques et expérimentales faites sur *Æ. glauca* m'ont permis de distinguer quatre sortes d'éléments dans le foie de cette espèce :

Les *xanthinocytes*;

Les *cellules vacuolaires*;

Les *cellules hépatiques* = cellules à ferments;

Les *cellules indifférentes*.

Nous verrons que ces cellules, sauf les cellules vacuolaires, ne correspondent pas aux diverses catégories de cellules établies par **Hecht**.

On sait que l'épithélium hépatique dessine de nombreux replis (fig. 1). Les cellules qui viennent d'être signalées y sont réparties d'une façon assez irrégulière. Généralement, les cellules indifférentes et les xanthinocytes sont situées au fond des culs-de-sac. De toutes ces cellules, ce sont les éléments hépatiques qui sont de beaucoup les plus nombreux.

A. — XANTHINOCYTES.

J'ai désigné (1934) sous le terme de *xanthinophores*, des cellules spécialisées du foie d'*Æ. glauca* et d'*Æ. croisicensis*, caractérisées par la présence d'un ou plusieurs sphérocristaux de xanthine. Il est préférable d'appeler ces cellules des *xanthinocytes* et de réserver le terme de xanthinophores aux lacunes de l'épithélium cutané qui renferment des petits cristaux de xanthine.

I. — Cytologie.

Les *xanthinocytes* sont des cellules de forme et de dimensions très variables. Ils peuvent être cylindriques, coniques ou en massue. Ils sont souvent déformés par les sphérocristaux (fig. 2). Ils ont en moyenne 15 à 20 μ de hauteur, certains atteignant jusqu'à 25 ou 30 μ . La présence d'un ou plusieurs sphérocristaux de grande taille fait souvent saillir la partie apicale de la cellule et celle-ci prend une forme en massue. Lorsque ces enclaves sont localisées dans la partie basale de la cellule, celle-ci devient très large, la largeur peut alors atteindre jusqu'à 20 μ (fig. 2, e).

Le noyau est relativement volumineux, tout au moins dans les



FIG. 1. — Papille dorsale d'*Aelidiella glauca*.

a, cnidosac; *b*, cellule vacuaire; *c*, xanthinocytes; *d*₁, cellules hépatiques avec xanthelles; *d*₂, cellules hépatiques sans xanthelles; *e*, épithélium intestinal; *f*, tubes rénaux (fix. au Carnoy, color. au bleu de toluidine).

jeunes cellules (fig. 4, *a*). Il renferme de nombreuses granulations

chromatiques et un gros nucléole se colorant intensément en rouge-orangé par la méthode de Mallory. Les sphérocristaux peuvent rejeter le noyau sur le côté de la cellule ou même au pôle apical de celle-ci (fig. 2, c, e; fig. 3, b). Les cellules qui renferment de très grosses



FIG. 2. — Xanthinocytes. Structure du substratum organique des sphérocristaux de xanthine (*Æ. glauca*).

a, fix. Carnoy; color. trichrom. de Masson; b, e, f, g, fix. sublimé acétique, même color.; c, fix. Brasil, color. au Giemsa; d, techn. Dietrich-Parat-Volkonsky.

enclaves ont souvent un noyau réduit et en voie de dégénérescence (fig. 2, b).

Sur les coupes colorées au Giemsa, après fixation au Brasil, il est facile de distinguer les xanthinocytes des autres cellules, bien que la xanthine ait été complètement dissoute et qu'il ne reste plus que les vacuoles qui contenaient les sphérocristaux (fig. 2, c). Le cytoplasme est en effet basophile, surtout autour des vacuoles où il se colore fortement en bleu, tandis que le cytoplasme des autres cellules est acidophile et se colore en rose.

Les sphérocristaux. — Les sphérocristaux ont de 3 à 13 μ de diamètre, pouvant même atteindre jusqu'à 15 μ . Les xanthinocytes en renferment le plus souvent un ou deux seulement; cependant, certaines cellules en possèdent jusqu'à quatre ou cinq, et plus ils sont nombreux, plus leur taille est faible. Examinés sur les tissus vivants ou sur les coupes, ils présentent une double striation : une striation radiaire et une striation concentrique (fig. 3, a, b, c) mais ne sont pas formés de baguettes cristallines comme pourrait le faire croire un examen à faible grossissement : ils sont, en réalité, constitués par un grand nombre de petites sphérules disposées assez régulièrement en files radiales et en couches concentriques. Cette dernière disposition permet de penser que l'accroissement de ces enclaves se fait par apposition; l'étude de leur genèse montrera qu'il en est bien ainsi.

On peut rencontrer de ces enclaves, de forme ovoïde, qui présentent un léger étranglement les séparant en deux parties symétriques : ce sont des sphérocristaux à deux centres de formation (fig. 3, c).

Tous très réfringents en lumière naturelle et de couleur verdâtre dans les tissus, ils sont à cette même lumière, jaunâtres sur les coupes. Biréfringents en lumière polarisée, les couleurs qu'ils affectent alors sont le vert, le jaune et l'orangé, avec prédominance du vert et du jaune. Ces couleurs ont été observées sur des coupes ayant environ 5 μ d'épaisseur : la substance anisotrope a donc une biréfringence élevée. Certains d'entre eux, examinés au microscope polarisant et en lumière parallèle, présentent une croix noire à contours plus ou moins nets (fig. 3, d). D'autres montrent des taches sombres, tantôt quatre, disposées vaguement en croix, tantôt plus de quatre, réparties sans ordre. Dans la grande majorité des cas, les enclaves s'éclairaient *presque* totalement, car il existe toujours des lignes noires sinueuses indiquant soit la limite des sphérules, soit l'existence, entre les sphérules qui seraient légèrement écartées les unes des autres, d'une substance isotrope, support ou ciment des sphérules. Cette dernière interprétation n'est pas invraisemblable car il est possible de mettre en évidence que les sphérocristaux possèdent bien un substratum organique non biréfringent. Les sphérocristaux qui présentent la croix noire d'interférence seraient ceux dont la

structure est plus régulière et dont la coupe passe par le centre ou près du centre de symétrie.

Nature des sphérocristaux. — Insoluble dans l'alcool, le chloroforme, l'éther, les acides lactique, citrique et acétique, la substance qui forme les sphérocristaux est soluble dans les acides minéraux, les alcalis, l'eau ammoniacale, l'hydrate de pipérazine et l'eau tiède.

Toutes ces réactions de solubilité sont celles des corps puriques très souvent employées sur lames dans la recherche de ces corps (Millot, 1923 et 1926; S. Mouchet, 1929). Soluble en même temps dans l'hydrate de pipérazine et dans l'ammoniaque, la substance étudiée l'est aussi dans l'alun de fer et l'acide picrique. Et l'on peut affirmer que cette substance des sphérocristaux est bien de la xanthine.

Techniques histologiques. — La facile solubilité de la xanthine dans un grand nombre de réactifs ne permet pas d'employer n'importe quelle technique histologique pour l'observation des sphérocristaux sur coupes. Ceux-ci sont dissous par la plupart des fixateurs, ce qui explique pourquoi ils n'ont jamais été vus. Les fixateurs à base d'acide picrique doivent être rejetés. Les fixateurs mitochondriaux : le B. O. S. U. et le Dietrich-Parat ne les conservent qu'en partie. Par contre, l'alcool absolu, le Carnoy neutre ou acide, le sublimé acétique les conservent parfaitement.

Toutes les méthodes de coloration ne conviennent pas non plus. Il faut éviter celles dont les manipulations sont trop longues, la xanthine se dissolvant facilement dans la plupart des réactifs colorants et dans les mordants. C'est ainsi que l'hémalun, l'hématoxyline au fer ou phosphotungstique, le Giemsa, etc., ne peuvent être utilisés. On peut colorer les tissus au bleu de toluidine, à la thionine picriquée et au violet de gentiane-vert lumière, mais avec les deux derniers de ces colorants, il faut opérer rapidement. Il faut remarquer que l'acide picrique inutilisable comme fixateur, peut être employé comme colorant à la condition qu'on ne le laisse agir que très peu de temps.

Substratum organique des sphérocristaux. — En employant le trichromique de Masson sur des tissus fixés au sublimé acétique,

on constate que la xanthine a disparu : elle a été dissoute au moment du passage des coupes dans l'alun de fer. Mais il reste dans la vacuole une substance organique amorphe se colorant en bleu et présentant le plus souvent quelques couches concentriques alternativement claires et sombres (fig. 2, *b* et *e*). Ces dernières sont très peu épaisses de simples lignes foncées séparant les couches claires.

Le substratum organique est également mis bien en évidence sur les pièces fixées par la technique de Dietrich-Parat, et colorées par la méthode de Volkonsky (fig. 2, *d*). Il se présente de même, formé de couches concentriques, les lignes sombres intensément colorées en bleu. Après fixation au B. O. S. U. et coloration à la fuchsine vert lumière, le stroma organique est coloré en vert pâle (fig. 4, *c*); souvent aussi, il a disparu, et l'on n'observe plus alors que des vacuoles vides. Dans tous les cas, l'action trop brutale du colorant fait disparaître le substratum (fig. 2, *c*).

On peut donc conclure de ces observations que les sphérocristaux sont formés de deux substances organiques : l'une, amorphe, basophile, constitue le substratum du sphérocristal, l'autre, cristallisée en sphérules de xanthine, est biréfringente.

La présence d'un stroma organique a été signalée également dans les concrétions des cellules rénales des Mollusques (**Turchini**, 1923).

Dans les xanthinocytes, les zones claires du substratum du sphérocristal ne sont pas formées d'une substance homogène, mais d'une substance présentant de nombreuses petites vacuoles disposées en couches concentriques.

De petites vacuoles ayant la même disposition s'observent aussi dans le cytoplasme entourant le sphérocristal. Et ce n'est évidemment pas un artefact, car cela est visible avec les techniques les plus diverses : dans les cellules dont le sphérocristal a été conservé (fixation au Carnoy et coloration au bleu de toluidine, fig. 3, *b*), dans les cellules qui n'ont plus que le substratum (fixation au sublimé acétique et coloration au trichromique de Masson, fig. 2, *f* et *g*), ainsi que dans les xanthinocytes qui n'ont plus que de grandes vacuoles d'où les sphérocristaux et le stroma ont disparu (fixation au Brasil et coloration au Giemsa, fig. 2, *c*), etc.

L'étude de la genèse des sphérocristaux fournira l'occasion de revenir sur ces particularités intéressantes.

Mais dès maintenant il est possible de noter que la présence d'un sphérocrystal de xanthine à l'intérieur d'une vacuole est due vraisemblablement à l'action du fixateur. Dans les tissus bien fixés cette vacuole n'existe pas (fig. 2, *f* et *g*; fig. 3, *b*). Le sphérocrystal est alors placé au sein même du cytoplasme. D'ailleurs, lorsque la vacuole est bien visible, on observe le plus souvent entre la paroi de celle-ci et celle du sphérocrystal ou du substratum un réseau

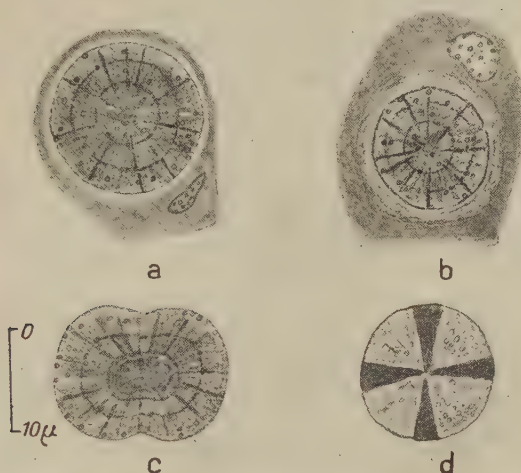


FIG. 3. — Xanthinocytes et sphérocristaux de xanthine (*A. glauca*).

a, xanthinocyte avec sphérocrystal complètement formé (fix. Carnoy, color. bleu de toluidine); *b*, sphérocrystal en voie d'accroissement (même techn.); *c*, sphérocrystal à deux centres de formation; *d*, sphérocrystal examiné en lumière polarisée parallèle.

organique plus ou moins altéré (fig. 2, *b* et *c*) correspondant à la zone qui normalement entoure le sphérocrystal, zone formée, comme il en a été fait la remarque plus haut, de petites vacuoles disposées en couches concentriques.

Avant d'étudier la genèse des sphérocristaux, il est nécessaire de passer en revue les constituants morphologiques des xanthinocytes.

Le vacuome et le chondriome. — Les colorations vitales au rouge neutre et au vert Janus, la technique mitochondriale de Dietrich-Parat suivie de la coloration de Volkonsky, et celle de Benoit

(B. O. S. U.) suivie de la coloration à la fuchsine vert lumière; les imprégnations osmiques de Mann-Kopsch, les imprégnations argentiques de Da Fano; autant de procédés m'ayant conduit à des résultats analogues. (Techniques sur lesquelles **M. Parat** a beaucoup insisté dans ses nombreux travaux de cytologie.)

a) *Vacuome*. — Dans les jeunes cellules, le vacuome est constitué par de petites vacuoles occupant le plus souvent la région cytoplasmique supranucléaire, mais pouvant descendre sur les flancs du noyau et même se masser à la base de la cellule. Ces vacuoles sont colorables *in toto* par le rouge neutre, observables également avec les techniques mitochondriales (fig. 2, *d*; fig. 4, *a*, *b*, *c*). Fuchsinophiles, elles sont cependant moins intensément colorées que les chondriosomes; elles présentent souvent un pourtour plus foncé.

Dans les xanthinocytes plus évolués, on observe des vacuoles plus grosses, toujours en petit nombre d'ailleurs, au maximum quatre ou cinq, le plus souvent une ou deux, provenant soit d'une vacuole qui a augmenté de volume, soit de la confluence de plusieurs petites vacuoles (fig. 4, *b*). Le contenu de ces gros éléments du vacuome, peu fuchsinophile et même parfois franchement basophile, subit le plus souvent une forte rétraction se trouvant alors entouré d'une auréole claire. Les inclusions cytoplasmiques ainsi formées sont de même dimension que les plus petites vacuoles qui renferment un sphérocrystal ou son substratum (fig. 4, *c*). Il est important de noter qu'entre ces vacuoles existent tous les intermédiaires tant du point de vue de l'aspect de leur contenu qu'à celui de la réaction plus ou moins basophile de ce dernier.

Dans de tels xanthinocytes, il y a presque toujours coexistence de ces grosses inclusions et des petites enclaves. Ces dernières sont réparties d'une façon quelconque dans le cytoplasme; il n'est pas rare qu'elles entourent les grosses vacuoles, se groupant même parfois en auréole autour de celles-ci.

Les petits éléments du vacuome sont nettement mis en évidence par les méthodes d'imprégnation osmique ou argentique dont les résultats sont analogues à ceux qu'on obtient avec les techniques mitochondriales.

Les imprégnations osmiques montrent dans le cytoplasme des

xanthinocytes de nombreux dictyosomes ou *corps de Golgi* d'aspect classique : ils présentent un pourtour foncé soit en forme de croissant, soit en forme d'anneau, c'est la *substance chromophile* des auteurs; dans la concavité du croissant ou dans le centre de l'anneau se trouve une substance moins imprégnée que la substance

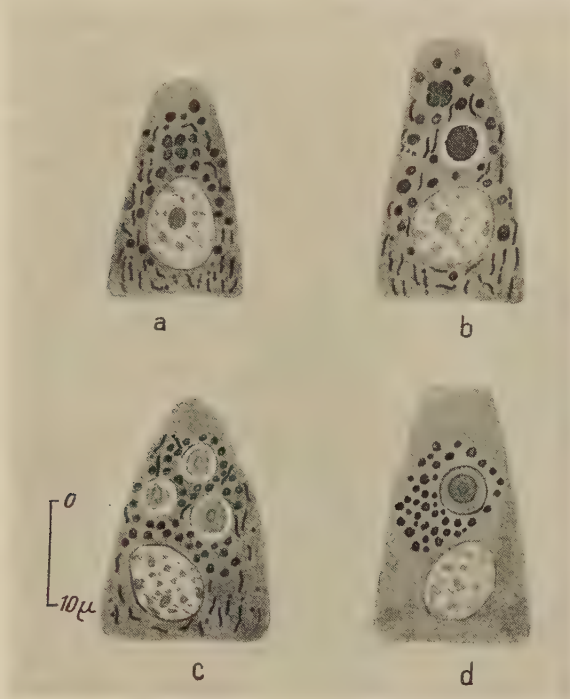


FIG. 4. — Xanthinocytes. Chondriome, vacuome, substratum organique (*Æ. glauca*).
a, b, techn. Dietrich-Parat-Volkonsky; *c*, techn. Benoit (B. O. S. U.); *d*, imprégnation osmique de Mann-Kopsch (ici le vacuome est imprégné sous forme de dictyosomes).

chromophile, c'est l'*archoplasme* ou *substance chromophile*. Fréquemment, on observe de petits éléments de Golgi complètement noircis.

Les dictyosomes sont souvent localisés dans la zone supranucléaire (fig. 4, *d*), mais ils peuvent s'étendre autour du noyau et s'accumuler aussi à la partie basale de la cellule. Lorsque ces corps golgiens confluent, ils forment des inclusions plus ou moins volumineuses qui s'imprègnent moins que les dictyosomes. Ces grosses

inclusions peuvent se rétracter plus ou moins, et dans ce cas, elles sont séparées du cytoplasme par une vacuole.

Dans les cellules qui renferment des inclusions représentant le substratum d'un sphérocristal, substratum qui est moins imprégné que les dictyosomes, mais plus que le cytoplasme, les dictyosomes sont fréquemment groupés autour de ces enclaves, soit d'une façon irrégulière (fig. 4, *d*), soit en une ou plusieurs couches à leur périphérie.

Les imprégnations argentiques donnent exactement les mêmes résultats, avec seulement une différence, peu importante d'ailleurs, dans l'aspect des dictyosomes : ceux-ci, à la suite des techniques argentiques ont une forme plus ou moins irrégulière.

En résumé, il y a concordance entre les résultats obtenus par l'examen vital et par les techniques mitochondriales et d'imprégnation métallique. Les vacuoles et les dictyosomes occupent la même position et évoluent de la même manière : ce sont donc des formations homologues.

On sait que **M. Parat** et ses collaborateurs ont démontré qu'en appliquant des techniques convergentes sur du matériel le plus varié, les éléments de Golgi ou dictyosomes sont les vacuoles observées sur les cellules vivantes sans coloration ou après coloration par le rouge neutre; il y a homologie complète du vacuome et de l'*appareil de Golgi* (**M. Parat**, 1925-1930).

b) *Chondriome*. — Le chondriome est formé par des chondriocontes fins et courts et par des mitochondries; celles-ci étant beaucoup moins nombreuses que ceux-là. Dans les régions infra et périnucléaire, les chondriocontes sont généralement orientés parallèlement à l'axe de la cellule, tandis que dans la partie supranucléaire, ils sont orientés d'une façon quelconque, serpentant entre les vacuoles (fig. 2, *d*; fig. 4, *a*, *b*, *c*).

Je n'ai jamais observé, au cours du fonctionnement du xanthinocyte, un rapport de filiation entre les éléments du chondriome et les enclaves. En particulier, il semble n'y avoir aucune relation entre les chondriocontes et la zone périphérique fuchsinophile des inclusions. Tout au plus peut-il y avoir parfois des rapports de contiguïté entre les chondriocontes et les enclaves.

Enfin, l'emploi des techniques histochimiques montre que les cellules ne renferment ni lipoïdes ni graisses neutres.

Les xanthinocytes ne possèdent donc pas de zone de Golgi avec les trois éléments typiques : vacuoles, chondriocotes actifs et lipoïdes (**M. Parat**). Les chondriocotes qui serpentent entre les vacuoles et les enclaves ne sont jamais pachynétiques, comme il arrive des chondriocotes actifs de la zone de Golgi (**M. Parat**), ils présentent les mêmes réactions que les autres chondriocotes.

M. Parat (1928-1930) a montré que la zone de Golgi n'existe pas dans toutes les cellules; il n'y en a pas quand les vacuoles ne forment pas un groupement compact.

II. — *Histophysiologie.*

a) *Genèse des sphérocristaux.* — Les enclaves du xanthinocyte ne sont pas d'origine mitochondriale. Une question se pose alors : les sphérocristaux se formeraient-ils aux dépens des constituants du vacuome? Apporter une explication définitive est difficile. Il est malaisé de saisir les premiers stades de formation des enclaves, et de plus, celles-ci étant toujours très peu nombreuses dans une même cellule, leur genèse ne peut être étudiée que par la comparaison d'un grand nombre de cellules. Et le problème se complique encore du fait que le sphérocristal est formé de deux substances différentes : l'une amorphe, l'autre cristallisée.

Un fait important est à noter tout d'abord : jamais on n'observe de petits granules de xanthine isolés dans le cytoplasme; les sphérocristaux ne se forment donc pas par une simple accumulation de sphérules de xanthine en un point quelconque du cytoplasme. Faut-il admettre alors qu'il y a simplement cristallisation autour d'un centre de formation? Mais cela n'expliquerait pas la présence d'un substratum amorphe. Le processus est plus complexe.

Les plus petits sphérocristaux observés avaient $2\ \mu$ 5 à $3\ \mu$ de diamètre et présentaient plusieurs couches concentriques de corpuscules de xanthine. Lorsque cette substance a été dissoute, il reste (p. 316) un substratum organique souvent vacuolaire (fig. 2, a) et un peu moins basophile que celui des sphérocristaux plus développés.

Du point de vue de l'acidophilie et de la basophilie, il y a tous les termes de passage entre les vacuoles de petites dimensions dont la plupart sont un peu acidophiles, et les inclusions plus développées, dont les unes sont un peu acidophiles, les autres nettement basophiles. Parmi ces dernières, il y en a formées de couches concentriques dont les zones claires sont le plus souvent vacuolaires; on sait qu'elles représentent incontestablement le stroma du sphéro-cristal (p. 316).

De plus, toutes les enclaves s'imprègnent par les techniques argentiques et osmiques, les dictyosomes étant plus noircis que les grosses inclusions. Il y a donc une certaine parenté chimique entre les dictyosomes et les autres enclaves dont certaines sont facilement homologables au stroma organique. C'est là un argument en faveur d'une filiation entre les constituants du vacuome (ou dictyosome) et le substratum des sphérocristaux.

Quoi qu'il en soit, la genèse d'un sphérocrystal se fait en deux temps : le substratum se forme avant les cristaux de xanthine. La figure 3, *b*, est particulièrement démonstrative. Autour de sphérocrystal on voit un cytoplasme différencié formé par de nombreuses vacuoles disposées en couches concentriques. Cette zone correspond à la couche vacuolaire et basophile que l'on observe parfois à la périphérie d'une vacuole dont le sphérocrystal a été dissous (fig. 2, *c*). En lumière naturelle, cette zone n'est pas beaucoup plus réfringente que le reste du cytoplasme; en lumière polarisée elle ne s'éclaire pas : elle ne contient donc pas de substance anisotrope. Il faut alors admettre que la xanthine arrive à l'état dissous dans toutes ces petites vacuoles et qu'elle y cristallise sous la forme de petites sphérules lorsqu'elle est suffisamment concentrée. Le cytoplasme qui sépare les vacuoles formera le substratum.

D'où viennent alors les vacuoles situées à la périphérie d'un sphérocrystal en voie d'accroissement? Elles se forment peut-être sur place par différenciation progressive du cytoplasme. Il est possible aussi que le sphérocrystal s'accroisse par apport continu de petites enclaves (constituants du vacuome) qui, en se fusionnant, formeraient le stroma organique. Celui-ci deviendrait vacuolaire et la xanthine cristalliserait ensuite dans les vacuoles ainsi formées. Cette dernière hypothèse n'est pas exagérée car nous avons vu que

les enclaves de petite taille représentant les éléments du vacuome avaient tendance à se grouper autour des sphérocristaux.

En résumé, il est logique d'admettre que le substratum des plus petits sphérocristaux se forme aux dépens des éléments du vacuome. Ceux-ci par leur propre accroissement ou par confluence de plusieurs constituants du vacuome, forment une enclave de plus grande taille dont le volume atteint celui des plus petits sphérocristaux (2μ 5 à 3μ de diamètre). Le contenu de cette enclave est d'abord un peu fuchsinophile, puis devient nettement basophile; il se creuse de vacuoles très petites dans lesquelles la xanthine cristallise. Le sphérocrystal de très petite taille ainsi constitué devient un centre de formation, il s'accroît suivant l'un ou l'autre des processus décrits ci-dessus.

b) *Destinée des sphérocristaux.* — Lorsque les sphérocristaux ont atteint une certaine taille, ils sont expulsés de la cellule par effraction de la membrane. Les coupes montrant ce processus ne manquent pas. Les enclaves xanthiques tombent alors dans les cæcums hépatiques, cheminent dans l'intestin et sont enfin rejetés au dehors avec les excreta. Ce processus a pu être contrôlé maintes fois sur les coupes des diverses régions du tube digestif ainsi que par l'examen microscopique d'excreta récemment rejetés.

Dans le tube digestif, et surtout dans les excreta, les sphérocristaux se présentent plus ou moins altérés, en partie dissous, par les sucs digestifs ou l'eau de mer. Un séjour trop prolongé dans l'un ou l'autre de ces milieux provoque d'ailleurs leur dissolution complète. Ce fait n'a rien de surprenant étant donné le grand nombre des solvants de la xanthine. Cette dissolution est souvent précédée de la mise en liberté de tout ou partie des sphérules constituant les sphérocristaux.

Le xanthinocyte qui a rejeté des inclusions xanthiques peut se comporter de deux façons : ou bien il continuera à former de nouvelles inclusions, et dans ce cas se présente un cycle sécrétoire que termine l'expulsion du sphérocrystal, la cellule sécrétant et excréant suivant le mode méocrine; ou bien il dégénérera, ce qui arrive lorsque les inclusions sont ou trop nombreuses ou trop grosses, et alors le processus élaborateur rappelle le mode holocrine.

A l'égard de la xanthine qui représente un produit d'excrétion, le xanthinocyte joue un double rôle : accumulateur et évacuateur.

B. — CELLULES VACUOLAIRES.

I. — *Cytologie.*

Les cellules vacuolaires ont été sommairement décrites par **Hecht** chez les Doridiens et les Éolidiens. Avant de faire l'étude des constituants morphologiques du cytoplasme de ces cellules, j'ajouterai quelques détails à la description de **Hecht**.

Les cellules vacuolaires d'*Æ. glauca* sont des éléments de forme et de dimensions variables. Elles ont en moyenne 30 μ de hauteur, les plus grandes atteignant jusqu'à 37 ou 38 μ . Plus ou moins nettement côniques ou pyramidales généralement, elles sont parfois ovoïdes ou même plus larges que hautes. Elles sont ciliées, et les cils sont pourvus d'une granulation basilaire et d'une courte racine; ces cils disparaissent le plus souvent chez les cellules adultes. Le noyau est nucléolé et occupe généralement la région basale de la cellule, parfois aussi la région centrale ou latérale.

Ce qui caractérise ces cellules, c'est la présence de vacuoles renfermant chacune une granulation. Lorsque ces vacuoles sont très nombreuses, elles sont comprimées les unes contre les autres et prennent une forme polyédrique ainsi que l'a vu **Hecht**. Mais dans les cellules bien fixées n'ayant pas encore atteint la dernière phase du cycle sécrétoire, les vacuoles sont nettement sphériques.

a) *Le vacuome.* — Les observations vitales des cellules vacuolaires, comme d'ailleurs celles des autres catégories de cellules composant l'épithélium hépatique, sont rendues assez difficiles du fait qu'il est malaisé d'identifier avec certitude les stades les plus jeunes parmi ceux que présentent les nombreuses cellules obtenues par dilacération des tissus hépatiques dans le colorant. De plus, toutes les cellules se déforment dans l'eau de mer colorée, prenant une forme ovoïde ou sphérique de sorte que les rapports entre les différents éléments morphologiques du cytoplasme sont modifiés.

Dans les plus jeunes cellules vacuolaires identifiées avec certitude,

ou encore dans les cellules vacuolaires bien développées et examinées au premier stade du cycle sécrétoire, la coloration au rouge neutre montre de nombreuses petites vacuoles, colorées *in toto*, occupant la région cytoplasmique périnucléaire. Un peu en dehors de cette zone le plus souvent au-dessus du noyau, se trouvent quelques vacuoles de mêmes dimensions que les précédentes, ou un peu plus grandes, mais renfermant une petite granulation sphérique. Le rouge neutre pénètre lentement dans ces vacuoles et y donne naissance à de fins précipités qui se déposent sur les granulations, celles-ci se colorant bientôt en rouge intensément.

Dans d'autres cellules, de grande taille, ayant atteint la dernière phase du cycle sécrétoire, on observe des vacuoles de plus grandes dimensions, renfermant chacune une granulation plus développée aussi. Ces vacuoles sont sensiblement de même taille et sont nombreuses au point d'occuper presque tout le cytoplasme. Vis-à-vis du rouge neutre elles se comportent comme les petites vacuoles à granulations signalées précédemment. La couche périphérique des granulations est plus intensément colorée de sorte que chaque granulation semble entourée d'une coque. Il faut remarquer que lorsque l'on peut observer de semblables cellules, les petites vacuoles périnucléaires et colorables *in toto* par le rouge neutre sont devenues peu nombreuses.

Si l'on injecte dans la cavité générale d'un Éolidien du rouge neutre à 0,5 p. 100 dans de l'eau de mer, on peut suivre facilement les progrès de la coloration vitale des cellules vacuolaires. Les images obtenues sont identiques à celles que l'on vient de décrire.

Sur les coupes, l'emploi des techniques mitochondriales et d'imprégnation métallique permettent de pousser plus loin les observations. Les techniques mitochondriales se sont montrées assez incertaines, elles ne conservent pas toujours les éléments du vacuome; j'ai obtenu les meilleurs résultats avec la fixation de Benoit (B. O. S. U.), suivie de la coloration de Volkonsky ou à la fuchsine-aurantia.

Dans des cellules que l'on peut considérer comme se présentant au premier stade de la formation des enclaves, le vacuome est figuré par de nombreuses petites vacuoles réservées en clair et situées autour du noyau. On en trouve aussi quelques-unes de même taille

ou un peu plus grandes renfermant une petite granulation sphérique fuchsinophile. Celles-ci sont localisées presque toujours au-dessus du noyau, un peu en dehors de la région occupée par les vacuoles précédentes, parfois mêlées à elles. Les vacuoles réservées en clair correspondent aux petites vacuoles colorables *in toto* par le rouge neutre; elles sont homologues aux *vacuoles plasmocrines* de **Renaut**, tandis que les vacuoles à grain fuchsinophile correspondent aux *vacuoles rhagiocrines* de ce même auteur.

A un stade plus avancé (fig. 5) on retrouve ces deux sortes de vacuoles. Les premières sont devenues moins nombreuses, les secondes donnent naissance à d'autres plus volumineuses dont la granulation augmente de taille en même temps. Cette granulation est toujours sphérique mais devient moins fuchsinophile, la périphérie est plus intensément colorée, semblant former une coque comme nous l'avons déjà observé avec le rouge neutre. Ces vacuoles sont accumulées dans la portion cellulaire située au-dessus du noyau, mais il arrive qu'elles soient aussi formées tout autour du noyau celui-ci prenant alors une position plus ou moins centrale, ou bien encore nettement latérale. A mesure que ces vacuoles deviennent plus nombreuses le cytoplasme diminue.

A un stade encore plus avancé, le cytoplasme se présente entièrement occupé par des vacuoles ayant toutes sensiblement les mêmes dimensions. Celles-ci peuvent être comprimées les unes contre les autres, prenant alors, parfois, une forme polyédrique. Le cytoplasme qui entoure le noyau est très réduit, et renferme quelques vacuoles plasmocrines et rhagiocrines, mais les premières ont souvent disparu.

Les techniques d'imprégnation métalliques donnent des figures superposables à celles obtenues par les colorations vitales et avec les techniques mitochondriales (fig. 6). Les plus petits éléments osmiophiles sont périnucléaires et très imprégnés, correspondant aux petites vacuoles. Ils se présentent sous la forme de petits grains complètement noircis. On trouve aussi des dictyosomes classiques et des grains envacuolés. Le nombre et la grosseur de ces éléments varient avec les cellules examinées. On passe insensiblement des dictyosomes aux vacuoles bien individualisées renfermant une granulation sphérique osmiophile. Celle-ci est moins imprégnée que les

plus petits dictyosomes; dans les vacuoles définitivement constituées, les granulations présentent une zone centrale et une périphérie plus noircie que le reste de l'enclave.

b) *Chondriome*. — Le chondriome est formé par des chondriocontes et quelques mitochondries (fig. 5). Ces chondriosomes sont répartis d'une façon quelconque dans le cytoplasme, les chondriocontes serpentant entre les vacuoles et ayant parfois des rapports de contiguïté avec ces dernières. Ils ne forment jamais de feutrage épais. Je n'ai jamais observé de figures pouvant être interprétées comme indiquant une filiation entre les chondriocontes et les enclaves. Quel que soit le type de cellule vacuolaire considéré, le chondriome revêt toujours le même aspect.

En résumé le chondriome et le vacuome des cellules vacuolaires ne sont pas polarisés : ils ne se groupent jamais en un point déterminé du cytoplasme de façon à former une zone de Golgi. Le vacuome comprend des petites vacuoles périnucléaires à contenu fluide et des vacuoles à inclusion sphérique. La variation dans le nombre, la taille et l'aspect de ces vacuoles est en rapport avec les divers stades de l'activité sécrétrice de la cellule.

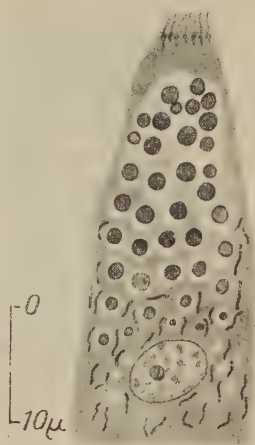


Fig. 5. — Cellules vacuolaire (*Ae. glauca*) Techn. Benoit (B. O. S. U.), Vacuome, Chondriosomes, granulations lipidiques.

II. — Histophysiologie.

a) *Formation des enclaves*. — Les granulations intravacuolaires se forment aux dépens des éléments du vacuome. On trouve tous les intermédiaires entre les petites vacuoles périnucléaires et les enclaves définitivement constituées. Il y a donc une filiation entre ces divers constituants cellulaires. De plus, la façon dont se comporte le vacuome vis-à-vis du rouge neutre, soit après une injection phy-

siologique, soit par dilacération des tissus dans ce colorant, donne des indications sur le mode de formation des inclusions. Il semble logique de penser que la substance formant ces enclaves arrive à l'état diffus dans la cellule, qu'elle se concentre de plus en plus dans les vacuoles jusqu'à un point optimum où elle se condense en une

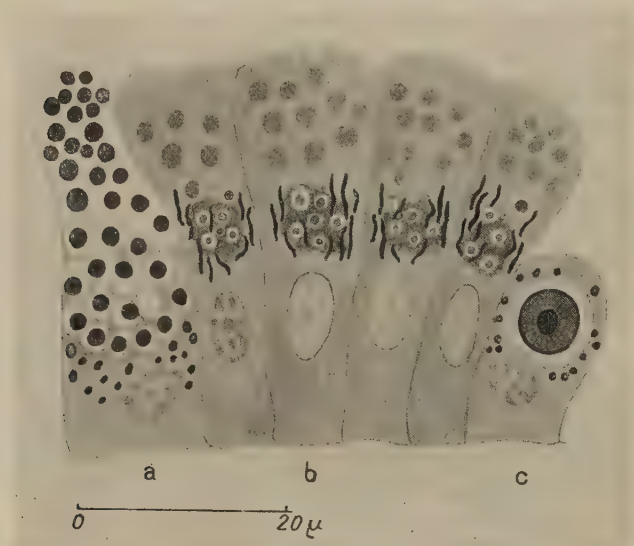


FIG. 6. — Cellules de l'épithélium hépatique (*Z. glauca*).
Imprégnation osmique de Mann-Kopsch.

a, cellule vacuolaire : dictyosomes, granulations lipidiques; b, cellules hépatiques : zone de Golgi, boules de sécrétion; c, xanthinocyte : dictyosomes, substratum organique d'un sphérocrystal.

granulation sphérique dont la taille croît ensuite en même temps que celle de la vacuole qui la contient.

Des faits assez semblables ont été mis en lumière par **M. Parat** et surtout **M. Parat** et **P. Feyel** (1930) dans une belle étude cytologique sur un matériel de choix constitué par le rein antennaire de l'*Écrevisse*.

b) *Destinée des enclaves.* — **Hecht** a montré, au moyen des injections physiologiques, que les cellules vacuolaires étaient des cellules excrétrices. Les granulations intravacuolaires représentent bien en effet des produits d'excrétion. Lorsque les vacuoles ont atteint leur taille définitive et sont devenues trop nombreuses, leur granulation

est rejetée par effraction dans le cæcum hépatique. Il ne semble pas, comme **Hecht** l'a prétendu, que ce soient les vacuoles elles-mêmes qui soient expulsées; les granulations ne sont pas toutes rejetées d'emblée, l'expulsion se fait de temps en temps seulement : assez souvent, on voit à l'apex de la cellule des vacuoles en voie de destruction, fusionnées en une grande vacuole irrégulière au sein de laquelle les granulations sont libres; ce phénomène précède la rupture de la paroi cellulaire et la mise en liberté des enclaves.

c) *Cycle sécrétoire*. — De l'étude faite sur le vacuome, il résulte que celui-ci subit une évolution dans laquelle nous pouvons distinguer quatre stades.

1^{er} *stade*. — Le vacuome est formé par des vacuoles petites et nombreuses, périnucléaires, à contenu fluide et par d'autres ayant à peu près les même dimensions mais contenant une petite granulation.

2^e *stade*. — Ces dernières vacuoles augmentent de taille progressivement et en même temps deviennent plus nombreuses tandis que le nombre des premières diminue.

3^e *stade*. — Les vacuoles ont atteint leur taille définitive et renferment chacune une granulation sphérique qui, elle aussi, a augmenté de volume. Ces vacuoles « adultes » deviennent de plus en plus nombreuses et le cytoplasme diminue d'autant. Dans la région périnucléaire, se trouvent encore des vacuoles à granulation de taille moyenne. Le plus souvent les petites vacuoles ont disparu.

4^e *stade*. — Le cytoplasme est presque entièrement occupé par les vacuoles adultes. Après rupture d'un certain nombre de vacuoles situées au pôle apical de la cellule et rupture de la paroi cellulaire, des enclaves sont expulsées.

Ce stade termine l'évolution du système vacuolaire et le cycle recommence par la formation de nouvelles vacuoles dans la région périnucléaire.

Un tel cycle sécrétoire n'existe pas dans toutes les cellules vacuolaires. Il n'est pas rare de trouver des cellules dont le cytoplasme est totalement occupé par des vacuoles adultes. Le noyau entre en pycnose et après l'expulsion des enclaves il ne reste plus rien de la cellule. Ce fait n'étant pas exceptionnel, il faut admettre que cette

dégénérescence doit atteindre normalement les cellules vacuolaires qui ont fonctionné pendant un certain temps. Autrement dit, au mode de sécrétion mérocrine se substitue un mode de sécrétion holocrine.

d) *Nature des enclaves*. — **Hecht** n'a donné aucun renseignement sur la nature des granulations des cellules vacuolaires des Nudibranches. **Cuénot** (1892) a signalé que les nodules des cellules vacuolaires des Gastéropodes pulmonés étaient de nature organique, car ils noircissent par l'acide osmique et se dissolvent presque entièrement dans l'ammoniaque.

Les granulations des cellules vacuolaires d'*Æ. glauca* sont bien conservées par les fixateurs mitochondriaux. Elles se colorent comme les chondriosomes, mais d'une manière moins intense : en noir par le Regaud, en rouge par le Dietrich-Parat-Volkonsky et le B. O. S. U. — fuchsine-vert lumière, en violet par le Benda. Elles noircissent par les techniques d'imprégnation osmique; dans tous les cas, elles présentent une périphérie plus colorée. Ces faits permettent de penser qu'il y a une certaine parenté chimique entre les chondriosomes et les enclaves des cellules vacuolaires. Celles-ci s'éloignent cependant des constituants du chondriome parce qu'elles résistent aux fixateurs acides. Le meilleur fixateur acide est le Zenker, après lequel les granulations se colorent électivement en bleu par le Giemsa.

Les colorants vitaux, employés sur les tissus vivants, les colorent avec une certaine intensité : le rouge neutre les teint en rouge, le bleu de crésyl brillant et le bleu de Nil en verdâtre. Ces colorations indiquent une réaction acide.

Enfin la technique de Dietrich-Parat pour la détection des lipoïdes a donné des réactions positives. Cette technique peut se faire de façons : a) la fixation Dietrich-Parat est suivie d'une laque à l'hématoxyline de Kultschitzky; ou bien : b) la même fixation est suivie d'une coloration au soudan III (Ciacco); dans le premier cas, les granulations intravacuolaires sont colorées électivement en bleu-noir, dans le deuxième, en jaune rougeâtre. Ces deux réactions permettent d'affirmer que ces granulations sont de *nature lipoïdique*.

La façon dont se comportent les enclaves des cellules vacuolaires

d'*Æ. glauca* sous l'action des réactifs colorés mitochondriaux aurait pu faire croire que ces enclaves pouvaient avoir une origine chondriosomique. L'emploi de techniques convergentes montre qu'elles se forment en réalité dans des vacuoles (vacuome). Les cellules vacuolaires ont un cycle sécrétoire, mais un moment vient où la cellule fonctionne comme un élément à sécrétion holocrine.

C. — CELLULES HÉPATIQUES.
(Cytologie et histophysiologie.)

I. — *Caractères généraux.*

Les cellules hépatiques (= cellules à ferments) d'*Æ. glauca* sont des éléments allongés un peu renflés au pôle apical. Ces cellules mesurent en moyenne 30 μ et peuvent atteindre jusqu'à 38 μ . Leur longueur varie avec leur état physiologique; chez les animaux à jeun, elles sont toujours plus basses (fig. 8). Le noyau est nucléolé et occupe la partie basale de la cellule; parfois, et ce fait est fréquent dans les cellules en pleine activité sécrétrice, il se rapproche du centre. Les cellules hépatiques sont ciliées et les cils sont pourvus d'une granulation basilaire et d'une courte racine; on peut compter jusqu'à une dizaine de granulations par cellule. Sur les coupes, les cils ne présentent pas toujours le même aspect : tantôt courts, tantôt atteignant une grande longueur, ce sont alors, comme l'a dit **Henneguy**, de véritables flagelles; tantôt bien individualisés, et tantôt fusionnés et alors la cellule semble porter une membranelle. Ce dernier aspect est dû à l'action des fixateurs et indique que les cils sont facilement déformables. On voit aussi, souvent, des cellules dépourvues de cils. **Henneguy** qui avait déjà signalé ce fait l'a attribué à une mauvaise fixation. Que, dans certains cas, la disparition des cils soit due à une fixation défectueuse, cela n'est pas douteux, mais cela peut se faire par un processus normal, non parce que les cils tombent, mais parce qu'ils se fusionnent avec le cytoplasme : cela se produit, par exemple, lorsque les Xanthelles ou des particules solides pénètrent dans la cellule. On peut donc comparer les cils des cellules hépatiques à de fins prolongements cellulaires.

II. — *Vacuome, chondriome, grains de sécrétion.*

Du fait que les cellules hépatiques possèdent aussi une fonction absorbante et phagocytaire, ainsi que nous le verrons plus loin, elles renferment fréquemment des enclaves dont la présence transitoire

rend plus difficile l'interprétation des coupes. En leur absence seulement, il est possible de faire l'analyse du chondriome et du vacuome; et on obtient leur disparition en laissant jeûner les animaux pendant un ou deux jours, ou bien encore, faisant durer ce jeûne plusieurs jours, en les nourrissant d'Actinies et en les fixant au moment où les particules alimentaires pénètrent dans les cæcums hépatiques, ce qui est facile à voir étant donnée la transparence des téguments. De cette façon, on obtient des cellules hépatiques se présentant aux différentes phases de la sécrétion.

Il est également nécessaire que ces cellules ne renferment pas de Xanthelles car la présence de

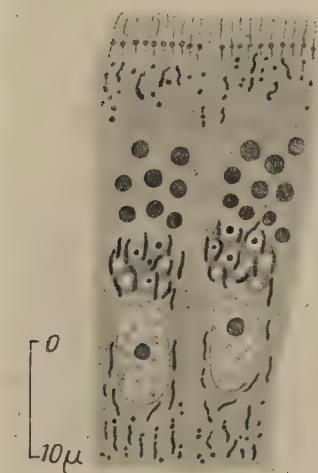


FIG. 7. — Cellules hépatiques (*Æ. glauca*). Techn. Benoit (B. O. S. U.), chondriome ordinaire, zone de Golgi, boules de sécrétion.

ces dernières rend difficile, ou même impossible, l'étude des éléments morphologiques du cytoplasme. Pour être sûr que les animaux soient sans Xanthelles, il ne faut prendre que ceux dont les papilles sont peu colorées, car l'abondance des Xanthelles est indiquée par la coloration brunâtre des cæcums hépatiques.

a) *Coloration vitale.* — La déformation des cellules hépatiques dans l'eau de mer colorée par le rouge neutre ne permet pas de pousser très loin les observations vitales. Le seul fait notable est la présence dans la zone supranucléaire d'un petit amas de vacuoles colorées *in toto* par le rouge neutre. Cet amas est nettement polarisé.

Un peu en dehors de lui, on trouve des vacuoles plus grosses, plus faiblement colorées par le rouge neutre et présentant un contour plus foncé. Les petites vacuoles colorées *in toto* et les plus grosses vacuoles moins colorées correspondent respectivement aux vacuoles *plasmocrines* et *rhagiocrines* de **Renaut**.

b) *Techniques mitochondriales*. — Les techniques mitochondriales sont de réussite difficile et j'ai dû faire de très nombreuses préparations avant d'obtenir un résultat convenable. Mais, alors, les images sont très démonstratives, mettant bien en évidence le chondriome, le vacuome et les grains de sécrétion (fig. 7). J'ai obtenu de bons résultats avec la méthode Dietrich-Parat-Volkonsky et le B. O. S. U.

Le chondriome est polarisé et forme trois amas : apical, basal et supranucléaire. Les groupements apical et basal sont formés par des chondriocontes un peu flexueux et par des mitochondries; ils correspondent au *chondriome ordinaire* de **M. Parat**. On observe aussi quelques chondriocontes et des mitochondries le long des bords de la cellule. Tous les chondriocontes sont le plus souvent orientés suivant l'axe de la cellule.

Le groupement supranucléaire forme avec le système vacuolaire une zone de Golgi typique. Il correspond au *chondriome actif* de **M. Parat** et ne comprend que des chondriocontes. Ceux-ci sont un peu flexueux également mais plus épais que ceux des autres groupements : phénomène de *pachynèse*, ou hypertrophie des chondriocontes, selon le terme employé par **M. Parat** (1928). Les chondriocontes s'insinuent entre les vacuoles, y sont parfois intimement accolés et le plus souvent, tout en pouvant conserver des rapports de contiguïté avec elles, ils s'orientent parallèlement à l'axe de la cellule.

Le vacuome comprend des vacuoles réservées en clair. Ces vacuoles sont le plus souvent localisés à la base ou sur les côtés de la zone de Golgi. Dans celles-ci on observe des grains fuchsinophiles de petite taille entourés d'une vacuole. Plus haut, ils sont plus volumineux en même temps que la vacuole diminue, et ils sont moins fuchsinophiles. En dehors de la zone de Golgi, ils sont encore un peu plus volumineux tandis que la vacuole a disparu. Les grains

sont alors devenus des boules de sécrétion qui gagnent peu à peu l'apex de la cellule.

Après la fixation au B. O. S. U., on observe souvent, à la place des boules de sécrétion, mises en évidence par la technique de Dietrich-Parat-Volkonsky, des vacuoles qui peuvent s'expliquer par la grande fluidité de la substance formant les boules de sécrétion.

Si l'on compare les résultats obtenus au moyen des techniques mitochondriales avec ceux auxquels conduisent les colorations vitales, il est logique d'admettre que les vacuoles réservées en clair sont homologues des vacuoles colorées *in toto* par le rouge neutre : ce sont des *vacuoles plasmocrines*, et les grains fuchsinophiles envacuolés sont homologues des *vacuoles rhagiocrines*.

Avec les techniques mitochondriales, tous les termes de passage sont observables entre ces vacuoles et les boules de sécrétion définitivement constituées. Il est de toute évidence que ces dernières proviennent d'une évolution des vacuoles de la zone de Golgi.

La zone de Golgi diffère du reste du cytoplasme non seulement par sa constitution, ainsi que nous venons de le montrer, mais aussi par sa colorabilité. Elle est un peu fuchsinophile; avec la technique de Dietrich-Parat-Volkonsky, elle se colore en rouge pâle ou en rouge orangé pâle tandis que le cytoplasme prend une couleur jaune rougeâtre, avec la technique de Benoît suivie de la coloration fuchsine-vert lumière, elle est rouge et tranche nettement sur le protoplasme, coloré en vert. Avec la technique de détection des lipoïdes de Dietrich-Parat, elle est colorée en bleu noir si l'on a employé la laque à l'hématoxyline de Kultschitzky, en orangé pâle, si l'on a fait usage d'une coloration au soudan III. Ces teintes indiquent que cette plage contient des lipoïdes diffus.

La description précédente de la zone de Golgi est celle d'un stade moyen du cycle sécrétoire de la cellule, représenté par la figure 7. L'aspect de cette zone est modifié suivant les différents moments de l'évolution sécrétrice. Dans les cellules au repos, la zone de Golgi a un vacuome formé de vacuoles réservées en clair et le cytoplasme ne renferme pas de boules de sécrétion. A la fin du cycle, le cytoplasme est au contraire rempli de ces boules et la zone de Golgi est dépourvue de vacuole. Lorsque la cellule est en pleine activité, le phénomène de *pachynèse* est plus accentué que lorsqu'elle est au repos.

c) *Techniques d'imprégnation.* — La technique d'imprégnation osmique de Mann-Kopsch a donné des résultats remarquables dont la figure 6 montre un exemple pris à la fin de l'évolution sécrétoire des cellules hépatiques. Seul, le chondriome de la zone de Golgi est imprégné; les chondriocentes sont nettement *pachynétiques*; il n'y a pas de vacuoles réservées en clair, mais seulement des grains envacuolés à peine noircis. Il y a passage insensible de ces derniers aux



FIG. 8. — Cellules de l'épithélium hépatique (*A. glauca*) chez un individu ayant jeûné un mois.

a, cellule vacuolaire; b, cellules hépatiques; c, xanthinocyte (fix. Bouin, color. hématoxyline ferrique-éosine).

boules de sécrétion définitivement constituées et en voie d'accumulation au pôle apical de la cellule. Les lipoides diffus sont imprégnés en gris foncé.

Imprégnée de même, une cellule au repos ou au début du cycle sécrétoire se présente sous un aspect comparable à celui sous lequel elle se montre après l'emploi des techniques mitochondriales. Les vacuoles réservées en clair avec ces dernières méthodes, sont, avec la technique de Mann-Kopsch, imprégnées le plus souvent.

Lorsque l'imprégnation osmique est trop poussée, les chondriomes basal et apical s'imprégnent aussi, mais la zone de Golgi, est alors trop noircie pour qu'on puisse l'analyser.

Les imprégnations argentiques donnent des images très variables

et souvent difficiles à interpréter. Le plus souvent, le vacuome seul est imprégné, mais il arrive aussi que l'imprégnation atteigne et le vacuome et le chondriome.

En résumé, la cellule hépatique est caractérisée du point de vue cytologique par la polarisation de son chondriome et de son vacuome. Le *chondriome ordinaire* forme deux amas : un amas basal et un amas apical. La zone de Golgi comprend les trois constituants caractéristiques signalés par **M. Parat** dans d'autres cellules : le vacuome, le *chondriome actif* et les lipoides diffus. Les boules de sécrétion se forment aux dépens du vacuome par condensation progressive des vacuoles. Il y a un cycle sécrétoire.

D. — CELLULES INDIFFÉRENTES.

Hecht a signalé chez *Æ. glauca*, sous le terme de *cellules indifférentes*, des éléments cellulaires étroits formant une partie importante de l'épithélium hépatique. Ces cellules seraient des éléments jeunes dont l'évolution se ferait dans un sens ou dans l'autre. Sur les coupes, elles se caractérisent par un protoplasma homogène et par un *noyau petit et allongé* situé à la base de la cellule.

Le fait que ces « cellules indifférentes » observées par **Hecht** sont très nombreuses, la description que cet auteur en donne et la figure qui accompagne cette description (fig. 35, pl. III) conduisent à penser que ces cellules correspondent en réalité à des cellules à ferments au repos.

Chez *Æ. glauca*, j'ai trouvé des cellules non différenciées, situées le plus souvent dans les culs-de-sac de l'épithélium hépatique.

Ces cellules ont de 10 à 15 μ de hauteur, sont plus ou moins nettement coniques, à protoplasma homogène et un peu basophile. Elles ont un noyau volumineux avec un gros nucléole et leur chondriome comprend des chondriocontes et des mitochondries répartis sans ordre dans le cytoplasme.

J'ai désigné ces cellules sous le terme de *cellules indifférentes*, quoiqu'elles ne correspondent pas aux cellules décrites par **Hecht** sous ce nom.

De plus, j'ai pu observer des divisions mitotiques de ces cellules.

Il semble que ce soient des cellules de remplacement pouvant donner, par différenciation progressive, soit de jeunes xanthinocytes, soit de jeunes cellules vacuolaires destinées à remplacer les cellules âgées au fur et à mesure de leur dégénérescence.

E. — VARIATIONS MORPHOLOGIQUES.

J'indiquerai ici très brièvement les principales variations morphologiques que j'ai pu observer dans les cellules des cæcums hépatiques de diverses espèces d'Éolidiens.

Les quatre sortes de cellules : cellules hépatiques, cellules vacuolaires, xanthinocytes, cellules indifférentes, décrites chez *Æ. glauca*, se retrouvent chez *Æ. croisicensis* avec les mêmes caractères.

Æ. papillosa ne possède que trois sortes de cellules : cellules hépatiques, cellules vacuolaires, cellules indifférentes. Les granulations des cellules vacuolaires possèdent les mêmes propriétés histochemiques que celles de *Æ. glauca*.

Chez *Berghia margaritæ*, *Spurilla neapolitana*, *Favorinus albus*, *Cuthona aurantiaca* et les *Acanthopsole*, on trouve aussi des cellules vacuolaires, hépatiques et indifférentes.

Chez *Coryphella Landsburgii* et chez *Janolus hyalinus*, il n'y a que des cellules vacuolaires et des cellules indifférentes. Je n'ai pu pousser très loin l'analyse cytologique des cellules vacuolaires de ces deux dernières espèces, car les quelques exemplaires que j'ai eu à ma disposition avaient été fixés au Brasil. Les cellules vacuolaires de *Coryphella* possédaient des vacuoles de dimensions inégales, vides de toute inclusion.

Les enclaves des cellules vacuolaires de *Janolus hyalinus* étaient conservées, et toutes les cellules n'avaient pas le même aspect (fig. 9). Les unes possédaient une énorme vacuole, quelquefois deux ou trois, renfermant une grosse concrétion colorable en bleu pâle par le trichromique de Masson (fig. 9, a); les autres étaient plus allongées que les précédentes et possédaient plusieurs vacuoles de dimensions sensiblement égales, contenant chacune une concrétion colorable aussi en bleu pâle par le même réactif (fig. 9, b); enfin, d'autres encore étaient vides, sans noyau, le cytoplasme étant réduit à une mince couche périphérique, éléments en dégéné-

rescence après l'expulsion de leurs enclaves, sans doute. Dans d'autres cæcums, il y avait, à la place des cellules *b*, des cellules de même forme, possédant aussi des vacuoles de mêmes dimensions, mais dont les inclusions étaient plus ou moins sidérophiles. Il est possible que ces diverses cellules vacuolaires ne représentent en réalité que les différents stades de l'évolution sécrétoire d'une même catégorie de cellules excrétrices. Quoi qu'il en soit, aucune d'entre elles ne peut être homologuée aux cellules vacuolaires d'*Æ. glauca*.



FIG. 9. — Cellules de l'épithélium hépatique (*Janolus hyalinus*).
a, *b*, *c*, cellules à concrétion; *d*, cellule indifférente (fix. Brasil, color. trichromique de Masson).

La structure de l'épithélium hépatique varie donc suivant les espèces. Et même il existe des différences considérables, témoins celles que l'on constate entre l'épithélium hépatique d'*Æ. glauca* et celui de *Coryphella Landsburgii* et *Janolus hyalinus*, pour ne citer que ces espèces chez qui je n'ai pu observer de cellules homologues aux cellules à ferments d'*Æ. glauca*. De cette constatation on peut penser qu'il existe également des variations importantes du point de vue de la physiologie des cæcums hépatiques. Les résultats obtenus chez *Æ. glauca* sont donc particuliers à cette espèce, ne pouvant par suite, s'étendre à tout le groupe des Éolidiens.

Dégénérescence des cellules hépatiques. — Chez *Favorinus albus*, j'ai pu observer un cas particulier de dégénérescence des cellules

hépatiques que je n'ai jamais trouvé chez les autres espèces.

Quelques exemplaires de *Favorinus* capturée au Croisic, possédaient des papilles beaucoup plus renflées qu'à l'ordinaire et présentant des taches d'un rouge vif. Placées entre lame et lamelle dans une goutte d'eau de mer, ces papilles ont mis en liberté de nombreuses cellules hépatiques desquelles sortaient des enclaves de grosseur variable, sphériques, réfringentes et colorées en rouge vif. Sur les coupes fixées au Brasil, elles se retrouvaient facilement

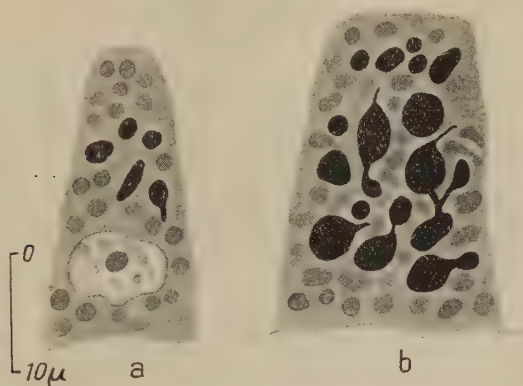


FIG. 10. — Cellules hépatiques (*Favorinus albus*).

a et b, dégénérescence cellulaire (fix. Brasil, color. Hématoxyline ferrique).

(fig. 10). L'hématoxyline au fer les colore fortement ainsi que la plupart des colorants basiques et acides. Leur forme est variable, sphérique, allongée ou irrégulière. Elles sont plus ou moins abondantes et leur présence coïncide toujours avec la dégénérescence de la cellule.

Dans les cellules qui ne renferment que quelques-unes de ces formations réfringentes (fig. 10, a), le cytoplasme est occupé par des boules colorées en gris par l'hématoxyline au fer; le noyau est hypertrophié, sa membrane est peu nette et il perd sa basophilie. A un stade plus avancé, les enclaves deviennent plus nombreuses et le noyau disparaît; les enclaves confluent et forment des masses irrégulières pouvant occuper toute la cellule.

Ces masses ne sont pas à proprement parler des enclaves, elles

résultent plutôt d'une dégénérescence cytoplasmique apparaissant en même temps que la dégénérescence nucléaire. La dégénérescence cytoplasmique est à rapprocher de la nécrobiose vitreuse ou hyaline : ici, elle est caractérisée par la coloration rouge que prennent les masses réfringentes du cytoplasme à la suite d'un phénomène pathologique dont la cause m'est restée inconnue.

CHAPITRE II

PHYSIOLOGIE DU FOIE

HISTORIQUE

Cuénot (1892-1899, 1907-1928) a montré que le foie des Gastéropodes et des Céphalopodes possédait plusieurs fonctions : sécrétrice, excrétrice, absorbante, d'arrêt et de réserve.

Il a été établi aussi qu'il pouvait y avoir dans le foie de certains Mollusques des processus d'absorption phagocytaire et de digestion intracellulaire. **P. Enriques** (1901) a étudié ces processus dans le foie des Tectibranches (*Aplysia depilans* et *Aplysia imacina*); **Von Bruel** (1904), (cité par **Potts**) (1923) a observé la digestion intracellulaire de chloroplastes d'Algues chez les Ascoglosses (*Herma*). D'après **List** (1902), les cellules du foie de *Mytilus* sont capables de capter les grains d'encre de Chine mélangés aux aliments. **Potts** (1923) a étudié la digestion intracellulaire du foie des *Teredo*. Enfin, d'après **Krijgman** (1929), et contrairement à l'opinion généralement admise, le pouvoir phagocytaire des cellules absorbantes de l'hépatopancréas des *Helix* n'existerait pas.

La physiologie du foie des Éolidiens a été peu étudiée. On ne connaît à ce sujet que les expériences de **Cuénot** et de **Hecht** sur *Æ. papillosa* montrant que les cellules vacuolaires, qui se colorent à la suite des injections physiologiques, ont une fonction excrétrice.

Quant aux diastases, elles n'ont fait l'objet d'aucun travail chez les Éolidiens, tandis que chez les Pulmonés et tout particulièrement chez les *Helix*, elles ont été beaucoup étudiées et les résultats de ces études sont devenus classiques.

RECHERCHES PERSONNELLES

Le foie d'*Æ. glauca* possède les fonctions principales suivantes : fonction sécrétrice, fonction absorbante, fonction excrétrice; les cellules hépatiques sont capables de phagocyter les particules solides incorporées aux aliments; dans ces mêmes cellules il peut y avoir digestion intracellulaire; enfin, le foie est un organe de réserves.

A. — FONCTION SÉCRÉTRICE.

Les cellules hépatiques ont la structure de cellules sécrétrices (voir p. 333). Les boules de sécrétion ou grains de zymogène qui s'y accumulent deviennent de plus en plus fluides à mesure qu'elles se rapprochent du pôle apical de la cellule et la substance qui les constitue diffuse dans la lumière du cæcum y apportant les ferments digestifs : c'est dans les cæcums que sont digérés les aliments.

Les cellules n'atteignent leur charge maxima en ferments qu'au moment de l'ingestion des aliments. La pénétration de ceux-ci dans le tube digestif détermine vraisemblablement une excitation particulière des cellules.

Une heure ou deux après l'ingestion des aliments, on constate que les boules de sécrétion ont considérablement diminué déjà. Sur les coupes faites d'animaux fixés de une heure à trois heures après l'ingestion, on remarque que les aliments sont entièrement liquéfiés. De ces faits, on peut conclure que le flux des sucs digestifs et l'action de ceux-ci sur les aliments se font rapidement.

Diastases.

a) *Préparation de l'extrait diastasique.* — Arrachées et reçues sur du papier buvard de façon à éliminer la plus grande quantité possible d'eau de mer, les papilles sont ensuite pesées, puis broyées au mortier avec du sable; on y ajoute de l'eau de mer à raison de 10 centimètres cubes pour 1 gramme de papilles. La filtration est faite immédiatement après le broyage et quelques gouttes de toluène ajoutées au milieu fermentaire empêchent toute contamination ultérieure. Les opérations de broyage et de filtration doivent être

Déterminant le pH au moyen de la méthode colorimétrique, j'ai utilisé des solutions d'indicateurs toutes faites et des échelles de teintes en tubes scellés de la marque R. A. L.

Les mêmes pipettes servant chaque fois, pour un volume constant des gouttes, et le nombre des gouttes de NaOH ou de HCl qu'il fallait ajouter à 1 centimètre cube d'extrait fermentaire pour obtenir un milieu de pH déterminé étant connu, il était facile de refaire les 16 mêmes milieux.

Digestion protéolytique : digestion de la fibrine de Porc. — Dans chacun des 17 tubes, j'ai mis 2 décigrammes de fibrine. Celle-ci avait été préalablement portée à l'étuve à 58° pendant plusieurs heures afin d'éviter tout phénomène d'auto-digestion (technique de **Mesnil**, 1901). Toutes les opérations ont été faites ensuite à l'étuve portée à 37°.

La dissolution de la fibrine est complète au bout de trente heures, sauf dans les tubes 1 à 17. Deux jours et demi après la mise à l'étuve une partie des liquides des tubes 2 à 16 est filtrée. On y constate pour tous les tubes la présence de peptones : il n'y a pas de précipitation par les acides minéraux ou par la chaleur, non plus que par le sulfate d'ammoniaque, et le liquide donne nettement la réaction du biuret.

Les peptones ne représentent pas le terme final de la digestion. Dès le troisième jour, apparaissent dans les flacons 8 et 9 deux acides aminés : le *tryptophane* et la *tyrosine*. Le tryptophane est facile à déceler au moyen de l'eau de brome. En ajoutant goutte à goutte ce réactif en liquide de digestion, on provoque une coloration rose virant peu à peu au violet. La réaction est toujours très nette. Pour la tyrosine, l'identification a pu se faire par la forme de ses cristaux, que l'on sait se présenter dans bien des cas en assez grande abondance pour être observés à l'œil nu, mais qui, là, peu nombreux, nécessitent pour être reconnus, un examen microscopique.

Le quatrième jour, le tryptophane et la tyrosine sont décelables dans tous les autres tubes, sauf dans les tubes 1 et 17. Les cristaux de tyrosine sont toujours rares, la réaction par l'eau de brome est nette dans tous les milieux.

Digestion de l'ectoderme d'Actinie. Même façon de procéder que pour la fibrine de Porc, chacun des 17 tubes recevant 2 décigrammes d'ectoderme d'Actinie (*Cylista undata* Mull.) en petits morceaux, l'introduction d'endoderme qui aurait apporté ses propres diastases étant évitée le plus possible.

Ici encore le tryptophane se forme dans les tubes 8 et 9 d'abord mais seulement au bout de quatre jours et demi; la tyrosine ne peut s'y déceler d'une façon certaine. Dans les tubes 1 et 17, la digestion n'a pas lieu.

Ainsi donc, malgré l'imperfection de la technique employée, on peut affirmer que le foie des Éolidiens (*Æ. glauca*) sécrète une diastase protéolytique active. (Peut-être y a-t-il en réalité des protéases proprement dites accompagnées de peptidases?) Ce ferment agit en milieu acide et en milieu alcalin, approximativement entre les pH 3,1 et 11,3, avec un optimum entre les pH 5,7 et 6,8. Ces résultats, évidemment, ne sont pas absolument définitifs, l'échelle des milieux de pH connus est insuffisante, il faudrait multiplier le nombre de ces milieux pour tenter de fixer d'une façon plus précise les limites de la zone d'action et surtout le point optimum.

Les résultats que j'ai obtenus sont différents de ceux qui ont été signalés chez d'autres Mollusques. C'est ainsi que **E. Graetz** (1929) a constaté que chez les Pulmonés terrestres la protéolyse de la peptone se faisait entre les pH 2 et 11,5 avec un optimum vers 7,6. Les valeurs de pH doivent sans doute varier suivant les espèces mais aussi suivant la matière à digérer (voir **H. Colin**, 1931).

Chez *Æ. glauca*, l'optimum d'action est situé nettement dans la zone acide lors de la digestion protéolytique de fibrine de Porc et d'ectoderme d'Actinie. Au cours de la digestion, les diastases agissent en milieu acide, ce qui se prouve par l'ingestion d'aliments colorés soit par le rouge neutre, soit par le bleu de Nil : à leur pénétration dans les cæcums hépathiques, il se produit un virage net des colorants indiquant une réaction acide du milieu.

c) *Ferment lipolytique.* — J'ai pu mettre en évidence l'action d'une lipase de l'extrait diastasique en opérant avec la monobutyryne suivant la technique employée par **Mesnil** (1901) pour l'étude de la lipase des Actinies. Dans deux tubes, numérotés 1 et 2, j'ai mis

1 centimètre cube d'extrait diastasique et 5 centimètres cubes de monobutyryne à 1 p. 100 dans de l'eau distillée :

le tube 1 a été porté à l'étuve à 20° pendant 24 heures,

le tube 2 — — — 37° — 24 heures.

Dans chacun d'eux, j'ai ajouté 2 gouttes de phtaléine du phénol et puis, goutte à goutte, une solution de $\text{NaOH} \frac{\text{N}}{20}$ jusqu'au virage :

dans le tube 1, il a fallu 14 gouttes,

dans le tube 2, il a fallu 21 gouttes.

Or, avant de porter à l'étuve, il fallait ajouter à la même liqueur 7 gouttes de $\text{NaOH} \frac{\text{N}}{20}$ pour obtenir le virage : la différence indique l'acidité due à l'action de la lipase.

L'extrait diastasique est sans action sur une émulsion d'huile d'olive; après quatre jours à l'étuve, à 37°, on ne trouve aucune trace d'acidité. Le pouvoir lipolytique de l'extrait diastasique des Éolidiens est donc faible.

Remarque. — Il est vraisemblable que les graisses soient absorbées sans avoir été préalablement saponifiées. Une expérience tendrait à le prouver, expérience faite déjà par Hecht, mais dans un autre but que celui que je poursuis. Un quart d'heure après l'injection dans le tube digestif de quelques gouttes d'huile d'olive émulsionnée, la fixation de l'animal a été faite avec le Flemming acide ou le B. O. S. U. et prolongée pendant deux jours. Sur les coupes alors, on observe de nombreux globules noircis se trouvant aussi bien dans la lumière de l'intestin que dans les cellules intestinales. Certaines de celles-ci en sont littéralement bourrées. L'absorption s'est donc faite rapidement et il est peu probable qu'en si peu de temps, la substance injectée ait pu subir une transformation chimique intestinale¹.

L'étude de l'extrait diastasique et l'expérience précédente prouvent que le pouvoir lipolytique du suc digestif sécrété par les cellules hépatiques est faible ou même nul.

Amylase. — Je me suis d'abord assuré que l'extrait diastasique

1. Il faudrait tenir compte aussi de la sécrétion salivaire.

ne renfermait pas de sucre réducteur. Le tableau ci-dessous montre de quelle façon, ensuite j'ai procédé :

tube 1 :	2 cm ³ d'extrait diastasique,	0 gr. 1 d'amidon soluble;
tube 2 :	— —	emploi d'amidon;
tube 3 :	— —	fécule de pomme de terre cuite;
tube 4 :	tube témoin.	

Les 4 tubes ont été mis à l'étuve à 37° pendant trois heures. Ce temps passé, dans le tube 4 il n'y avait pas de sucre réducteur, et, avec le contenu des tubes 2, 3 et 4, il y avait réduction de la liqueur de Fehling avec dépôt assez abondant de Cu²O.

Il est possible qu'il existe d'autres diastases attaquant divers glucides (des holo-glucocidases et des hétéro-glucocidases, comme cela a lieu chez de nombreux Mollusques, **J. Giaja**, 1909, voir aussi **H. Colin**, 1931). Je n'ai pu faire de recherches dans ce sens.

Après plusieurs heures à l'étuve à 37°, un mélange de 5 centimètres cubes d'extrait fermentaire et de 10 centimètres cubes de lait ne coagule pas : l'extrait diastasique ne renferme pas de présure. Les essais faits avec de la teinture de gaïac fraîchement préparée pour trouver les oxydases ont donné des résultats négatifs.

De ce qui précède on peut donc conclure que l'extrait diastasique du foie d'*Æ. glauca* renferme deux diastases actives : une diastase protéolytique et une diastase amylolytique.

Mais il faut remarquer que chez *Æ. glauca*, il y a à la fois digestion extracellulaire et digestion intracellulaire, ainsi qu'il sera étudié plus loin. La digestion intracellulaire s'accomplit précisément dans les cellules à ferments, on ne peut donc pas séparer ici les diastases déversées dans les cæcums hépatiques de celles qui, demeurant dans les cellules (endoenzymes), assurent la digestion intracellulaire. Peut-être s'agit-il des mêmes ferments? Mais il est probable qu'il faille distinguer les diastases endocellulaires des ferments digestifs. L'extrait diastasique renfermerait alors ces deux catégories de diastases.

B. — FONCTION ABSORBANTE.

Hecht a montré que chez les Éolidiens l'absorption des graisses se faisait par l'épithélium intestinal, mais il ne s'est pas occupé de

l'absorption des autres aliments. Chez les Éolidiens, il y a deux régions d'absorption : l'épithélium intestinal et l'épithélium hépatique; le premier absorbe les graisses, le second absorbe les autres aliments et un peu les graisses; le cæcum hépatique est aussi le lieu de résorption des matières colorantes introduites expérimentalement dans le tube digestif.

Pour mettre en évidence la fonction absorbante des cæcums hépatiques, j'ai procédé de deux façons : en réalisant des expériences assez semblables à celles de **Cuénot** et en analysant les coupes faites sur du matériel fixé à divers moments de la période de digestion.

La méthode de **Cuénot** consiste à donner à un animal des matières alimentaires préalablement colorées par un colorant soluble. Après dissection, on recherche la matière colorante. Si celle-ci s'est accumulée en une région déterminée de l'appareil digestif, on peut penser que cette région est un lieu d'absorption; la matière colorante a, suivant l'expression de **Cuénot**, retracé la marche des produits solubles de la digestion.

Les Éolidiens ont été nourris avec des morceaux d'Actinies adultes, ou avec des Actinies de quelques millimètres venant de sortir de l'Actinie-mère, d'abord colorées par divers colorants solubles : fuchsine acide, rouge neutre, bleu de méthylène, bleu de Nil, par un séjour prolongé (plusieurs jours) dans de l'eau de mer faiblement additionnée de ces colorants, ou bien par une injection de colorant en solution assez concentrée dans de l'eau de mer, puis lavées à l'eau de mer de façon à être débarrassées de l'excès de colorants avant d'être données en nourriture aux animaux. J'ai procédé de la même manière avec le saccharate de fer et le lactate de fer.

Grâce à la transparence des téguments des Éolidiens, il est facile de suivre la marche des aliments ingérés. Ceux-ci, après avoir été réduits en menus morceaux par le radula, arrivent dans l'intestin, mais n'y séjournent pas; les contractions continuelles de l'intestin combinées aux mouvements des cils vibratiles de l'intestin, du repli intestinal et des cæcums, chassent les particules alimentaires dans les cæcums, ces particules reviennent vers l'intestin, puis une nouvelle contraction les chasse de nouveau dans les cæcums; ces mouvements rythmiques se continuent pendant tout le temps que de nouveaux aliments arrivent dans l'intestin. Pendant l'ingestion

et la digestion il y a donc un brassage continuuel des aliments dans les cæcums hépatiques.

Peu de temps après la pénétration des aliments dans les cæcums, dix minutes à peu près, ceux-ci commencent à se colorer. L'intensité de la coloration croît à mesure que se poursuivent les phénomènes digestifs. Seul le foie est coloré, l'intestin n'est jamais teinté. L'examen microscopique des papilles montre que ce sont les cellules hépatiques qui ont pris la coloration, à l'exclusion des autres cellules de l'épithélium. Le colorant s'accumule dans de petites vacuoles et finit par colorer de façon diffuse le cytoplasme. Le virage du rouge neutre ou du bleu de Nil dans la lumière des cæcums et dans les cellules indique une réaction acide. Le saccharate de fer et le lactate de fer ont été recherchés sur les coupes après fixation au Brasil, par la méthode du bleu de Prusse : des grains bleus sont accumulés au pôle apical des cellules hépatiques; il n'y en a pas dans les autres cellules.

De ces faits, peut-on conclure que l'absorption des aliments se fait par les cellules hépatiques? On peut évidemment faire de graves critiques à la méthode employée et à l'interprétation des résultats. On peut objecter que ceux-ci ne se rapportent qu'à des substances anormalement introduites dans le tube digestif et que la présence du colorant dans les cellules hépatiques montre seulement qu'il y a résorption du colorant.

On peut répondre à cette objection que dans les expériences réalisées, la substance colorante est intimement incorporée aux aliments et que le colorant ne pénètre que dans le tissu hépatique, c'est-à-dire précisément dans la région où se fait presque entièrement la digestion des aliments. Il est assez logique de penser que les produits solubles résultant de la digestion suivent le même chemin que lui. Mais la preuve péremptoire de la fonction absorbante ne peut être donnée que par l'examen histologique du tissu hépatique aux différents moments de l'acte digestif.

Nous avons vu que les animaux laissés à jeun quelques jours, puis nourris, possédaient au début de l'ingestion, des cellules hépatiques bourrées de boules de sécrétion. Si les animaux, dans les mêmes conditions expérimentales, sont fixés une demi-heure après l'ingestion, on constate que les diverticules hépatiques sont remplis

d'une bouillie alimentaire dans laquelle on peut encore reconnaître quelques fragments de tissus actiniens (autres que les Xanthelles et les nématocystes qui ne sont pas digérés); on trouve aussi des aliments dans l'intestin, mais ceux-là sont à peine attaqués. Les cellules hépatiques n'ont plus la même structure, les boules de sécrétion sont déjà moins abondantes, mais on observe de grosses enclaves acidophiles ou basophiles formées par la condensation des substances absorbées.

Chez les animaux sacrifiés deux à trois heures après l'ingestion, les cellules hépatiques n'ont plus de boules de sécrétion, mais elles renferment de nombreuses enclaves de nature alimentaire, sphériques ou irrégulières, les unes acidophiles, les autres basophiles. Avec les techniques appropriées, on met en évidence quelques globules de graisse.

Enfin, si on laisse les animaux jeûner plusieurs jours, il y a disparition totale de ces enclaves.

De ces expériences et de l'examen histologique des coupes, on peut donc conclure à la fonction absorbante des cellules hépatiques. La polarité du chondriome (amas apical et basal) est probablement en rapport avec cette fonction.

Remarque. — L'accumulation du saccharate de fer ou du lactate de fer au pôle apical de la cellule hépatique pourrait être interprétée comme étant la preuve d'une fonction excrétrice plutôt que celle d'une fonction absorbante. Les sels de fer auraient pénétré dans la cavité générale après avoir traversé l'épithélium intestinal et passeraient ensuite dans les cellules hépatiques. Il est facile de répondre à cette façon de voir.

Quel que soit le moment où l'on fait la fixation, on ne retrouve jamais de fer dans les cellules intestinales ni dans les cellules de l'épithélium hépatiques autres que les cellules à ferments, même si, dans la réaction du bleu de Prusse, on procède préalablement à un démasquage à l'alcool acide. La présence des sels de fer dans les cellules hépatiques ne peut s'expliquer que par leur absorption par ces cellules.

Le fait que les matières colorantes et les sels de fer mélangés

aux aliments ne dépassent pas les cellules hépatiques met en évidence ce que **Cuénot** a appelé la fonction d'arrêt du foie.

C. — FONCTION EXCRÉTRICE.

L'étude cytologique du foie nous a montré que cet organe possédait deux sortes de cellules excrétrices : les cellules vacuolaires et les xanthinocytes.

La méthode des injections physiologiques peut aussi être appliquée à l'étude de la fonction excrétrice du foie. J'ai injecté dans la cavité générale des Éolidiens (*Æ. glauca*) des colorants dissous dans de l'eau de mer : fuchsine acide, vert de méthyle, carmin d'indigo, rouge neutre et dahlia.

Avec tous ces colorants, le tissu hépatique peut prendre une teinte diffuse, mais seules les cellules vacuolaires sont bien colorées : la matière colorante affecte d'abord les vacuoles, puis les inclusions qui se teignent alors d'une façon plus intense que les vacuoles elles-mêmes. Pour **Cuénot**, les cellules qui sont capables de retirer électivement du milieu intérieur les matières solubles injectées, possèdent une fonction excrétrice. **Burian** (1924), moins affirmatif, a proposé d'appeler *atrocytes* les éléments qui captent les colorants des injections physiologiques. Chez les Éolidiens, la propriété atrocytaire des cellules vacuolaires coïncide avec leur fonction excrétrice.

Quant aux xanthinocytes, bien qu'ils soient des éléments excréteurs comme le prouvent les recherches histophysiologiques et la nature des enclaves, ils ne se colorent par aucune des matières colorantes injectées. La méthode des injections physiologiques se trouve ici en défaut. Il est donc nécessaire, pour déterminer la fonction excrétrice d'une cellule, d'employer concurremment plusieurs méthodes : recherches histochimiques, histophysiologiques, injections physiologiques. Il n'y a pas, chez les Éolidiens, de cellules excrétrices homologables aux cellules cyanophiles des Pulmonés.

L'élaboration des sphérocristaux de xanthine et des enclaves lipoïdiques est continue, elle n'est pas influencée par les diverses phases de la digestion. Chez les Éolidiens qui ont jeûné pendant un mois, ces inclusions n'ont pas diminué, on doit donc les considérer comme étant en rapport avec le métabolisme endogène.

Remarques. — Je n'ai pas fait de recherches spéciales sur l'excrétion chez les Éolidiens. Je tiens cependant à signaler deux points importants se rapportant à cette fonction chez *Æ. glauca*.

a) Dans l'épithélium cutané se trouvent des lacunes renfermant de nombreux petits cristaux dont la nature a été déterminée par **A. Labbé** (1931) : ils sont formés par de la xanthine. Les cavités épidermiques ou xanthinophores n'ont pas été vues. Il faut remarquer aussi que la xanthine des cristaux contenus dans ces xanthinophores est différente de celle qui forme les sphérocristaux : à l'inverse de celle-ci, elle résiste aux fixateurs à base d'acide picrique. D'après **A. Labbé**, la xanthine épidermique serait en relation avec l'alimentation actinienne.

b) Les granules des cellules rénales présentent les réactions de solubilité caractéristiques de la xanthine.

Des recherches seront nécessaires pour préciser l'origine et la destinée de ces inclusions xanthiques.

D. — PROPRIÉTÉS PHAGOCYTAIRES ET DIGESTION INTRACELLULAIRE.

Lorsqu'on nourrit des Éolidiens avec des petits morceaux d'ectoderme d'Actinie mélangés à de l'encre de Chine ou à des grains de carmin, on retrouve facilement les grains d'encre de Chine ou de carmin dans les cellules hépatiques, soit par la méthode des coupes, soit par l'examen des tissus vivants.

Seules, les cellules hépatiques sont phagocytaires. Pendant la phagocytose, on constate les phénomènes suivants : les cellules hépatiques émettent de courts prolongements cytoplasmiques irréguliers et les cils vibratiles ne se voient plus; la membrane de séparation de ces cellules devient indistincte sauf dans la partie basale; les boules de sécrétion deviennent moins nombreuses ou même disparaissent (fig. 11). Les grains phagocytés sont isolés ou en amas plus ou moins volumineux. Sur les tissus vivants on peut se rendre compte que ces grains sont envacuolés.

La capture des particules solides mélangées aux aliments prouve-t-elle qu'il y a digestion intracellulaire?

On peut objecter que les cellules ne capturent seulement que des

substances non digestives. Il faut remarquer cependant que dans les expériences réalisées, ces substances sont toujours associées avec la nourriture et que, d'autre part, lorsqu'on laisse jeûner un Éolidien dont les cellules hépatiques ont phagocyté des grains de carmin, on constate deux faits : une partie des grains est expulsée, une autre reste dans les cellules, et les grains qui restent sont toujours envacuolés et peu à peu dissous. Cette dissolution d'une substance non

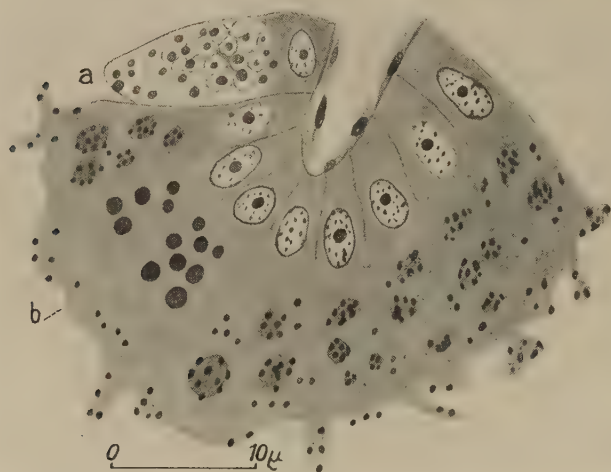


FIG. 11. — Pénétration des grains d'encre de Chine dans les cellules hépatiques (*Æ. glauca*).

a, cellule vacuolaire; *b*, cellules hépatiques renfermant des boules de sécrétion.

alimentaire donne l'image du processus de la digestion intracellulaire.

Mais, il y a d'autres faits qui prouvent d'une manière irréfutable qu'il y a bien digestion intracellulaire.

Pendant la digestion, tous les tissus de l'Actinie ne sont pas digérés. Sur les coupes faites sur un Éolidien fixé une demi-heure à une heure après l'ingestion de petits morceaux d'Actinie (*Cylista undata*), on observe, dans la lumière des cæcums hépatiques, quelques fragments de tissus d'Actinie; ces fragments sont filamenteux et intensément colorés en bleu par le Mallory après fixation au Brasil. Ils peuvent être captés par les cellules hépatiques et on les

reconnaît facilement dans le cytoplasme de celles-ci. J'ai pu observer ce phénomène dans les papilles normales et dans les papilles régénérées (fig. 12 et 13). Trois à quatre heures après l'ingestion des aliments on ne retrouve plus ces fragments tissulaires, ni dans les cellules, ni dans le tube digestif : ils ont été digérés par les cellules hépatiques.

Ces cellules sont capables aussi de digérer leurs Xanthes lors que le jeûne se prolonge (voir chap. III).

E. — FONCTION DE RÉSERVE.

Les cellules hépatiques renferment des globules de graisse, jamais très abondants et dont le nombre augmente pendant la digestion tandis qu'ils disparaissent lorsque les animaux restent sans nourriture. On peut donc considérer ces globules de graisse comme un produit de réserve exogène. Avec les méthodes spécifiques du glycogène : gomme iodée, carmin de Best, méthode de Vastarini-Cresi, on peut mettre en évidence, dans les cellules hépatiques, des plages toujours peu colorées et peu abondantes.

En résumé le foie d'*Æ. glauca* possède des fonctions multiples : sécrétion des diastases digestives, absorption des produits solubles de la digestion, rôle excréteur, lieu de processus de phagocytose et de digestion intracellulaire, fonction d'arrêt et fonction de réserve.

Les recherches cytologiques et physiologiques faites sur le foie d'*Æ. glauca* permettent d'établir les points suivants :

a) Les cellules vacuolaires et les xanthinocytes sont des cellules excrétrices qui rejettent dans la lumière des cæcums hépatiques et de l'intestin des produits du métabolisme endogène : les premières

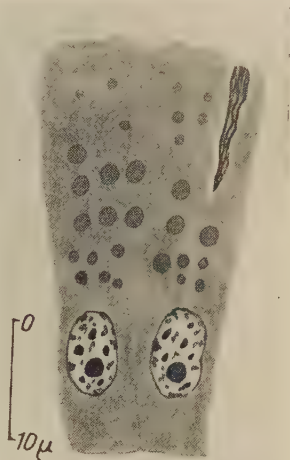


FIG. 12. — Cellules hépatiques (*Æ. glauca*). Fragment de tissus actiniens dans une cellule (digestion intracellulaire). Boules de sécrétion (fix. Bouin, color. Mallory).

expulsent des enclaves lipoïdiques, les secondes des sphérocristaux de xanthine.

b) Les cellules hépatiques accomplissent plusieurs fonctions : sécrétrice, absorbante, de réserve, phagocytaire et de digestion

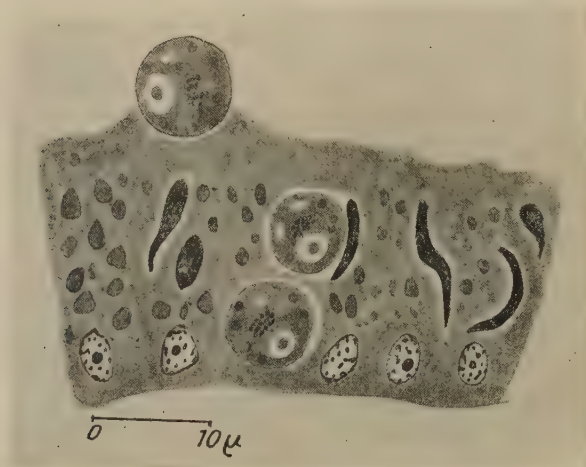


FIG. 13. — Cellules hépatiques d'une papille régénérée (*A. glauca*). Pénétration des Xanthelles et de fragments de tissus actiniens chez un individu nourri d'Actinies (fix. Bouin, color. Mallory).

intracellulaire. C'est aussi dans ces mêmes cellules que vivent et se multiplient les Xanthelles ainsi que l'étudie la troisième partie de ce mémoire.

CHAPITRE III

ZOOXANTHELLES

HISTORIQUE

1° *Les Zooxanthelles des Protozoaires et des Cœlentérés.* — Les Zooxanthelles ou *Xanthelles*, anciennement dénommées *corps jaunes* ou *cellules jaunes*, sont des Algues unicellulaires qui se rencontrent chez un certain nombre d'animaux marins. Elles vivent en symbiose dans le cytoplasme de nombreux Protistes : chez les Radiolaires, les Foraminifères et quelques Infusoires. Parmi les Métazoaires, les Cœlentérés, en particulier les Anthozoaires et les

Siphonophores, hébergent ces Algues symbiotiques dans leurs cellules endodermiques. Les Xanthelles ont été signalées aussi chez les Turbellariées.

Des *grains jaunes* ont été vus depuis fort longtemps par de nombreux naturalistes aussi bien chez les Radiolaires que chez les Siphonophores (**Lacaze-Duthiers**, 1861; **Haeckel**, 1862; **Agassiz**, 1883, etc...). **Agassiz** (1883) a désigné sous le terme de *yellow cells* les grains jaunes qu'il a observés chez les *Veella* et les *Porpita*. **Brandt** (1883-1885) et **Geddes** (1882) ont eu le mérite de montrer les premiers que, chez les Radiolaires comme chez les Coelentérés, les *yellow cells* étaient en réalité des Algues symbiotiques.

Les Xanthelles ont été étudiées chez les Radiolaires par **Geddes**, **Brandt**, **Stiasny** (1910); **Hovasse** (1922, 1923, 1924); chez les Foraminifères par **Schaudinn** (1910); chez les Coelentérés par **Brand**, **Geddes**, **Hadzi** (1910); **Müller-Calé** et **Krüger** (1913); **Kuskop** (1921); **Büchner** (1923); **Hovasse** et **Teissier** (1923).

Brandt a longuement étudié les Xanthelles, il a montré que ces Algues avaient une membrane cellulosique, des grains d'amidon, de la graisse, des grains biréfringents et de la chlorophylle. **Kuskop** a trouvé aussi de l'amidon dans les Xanthelles des Siphonophores. **Hovasse** a mis en évidence que le noyau des Xanthelles était un dinocaryon; **Hovasse** et **Teissier** (1923) chez une Hexactinie (*Anemonia sulcata* P.) et chez un Hydraire (*Aglaophenia-pluma* L.), et **Hovasse** (1923) chez un siphonophore (*Veella spirans* Lam.) ont constaté que les Algues symbiotiques possédaient un noyau du type dinocaryon, que la division de celui-ci était une dinomitose. **Hovasse** a fait l'étude cytologique des Xanthelles (*Zooxanthella Chattoni*) de *Veella spirans* : leur noyau est formé de granulations dont le nombre varie d'une cinquantaine à plusieurs milliers; ces granulations gardent toujours leur individualité et l'auteur leur donne la valeur de chromosomes; il y a des canaux intranucléaires; le cytoplasme renferme des vacuoles les unes vides les autres renfermant des inclusions acidophiles ou basophiles. Ces dernières sont au nombre de une ou deux seulement et se montrent très sidérophiles. Il existe aussi des éléments allongés, parfois anastomosés en réseau, **Hovasse** ne peut affirmer si ce sont des mitochondries ou des formations voisines des cristalloïdes de **A. Dehorne**.

2° Les *Zooxanthelles des Éolidiens*. — Les Éolidiens sont les seuls Mollusques chez lesquels les Xanthelles ont été signalées.

Henneguy (1925) a trouvé dans les cellules hépatiques de *Spurilla neapolitana* des *corps arrondis* possédant une vingtaine de granulations chromatiques, des grains formés d'une substance voisine des urates et une ou deux vacuoles renfermant un corpuscule acidophile. Il a vu des figures de division mitotique. Il n'a pas pu déterminer la nature de ces « corps arrondis ». Il en a donné deux interprétations : ou bien ce seraient des parasites endocellulaires analogues aux Zoochlorelles ou aux Zooxanthelles, ou bien ce seraient des formations endogènes. Il a constaté que les « corps ronds » sont assez semblables dans trois espèces d'Éolidiens prises dans des localités différentes : *Sp. neapolitana*, *Favorinus albus* et *Æolidiella glauca*. Il pense que ce sont les mêmes éléments que **Hecht** a désigné sous le nom de *sphères brunes* dans le foie d'*Æ. glauca*. **Naville** (1926) a décrit sommairement les Xanthelles du foie d'*Æolidiella alderi* et celles d'un Cœlentéré *Heliactis bellis* (Cœlentéré qui sert presque exclusivement de proie à l'Éolidien). Il a constaté qu'il y avait identité de structure entre les symbiotes de l'un et l'autre de ces animaux et pense qu'on peut alors admettre que les Xanthelles de l'Éolidien lui sont vraisemblablement inoculées par l'absorption d'un aliment contenant des Xanthelles. Les Xanthelles d'*Æ. alderi* et d'*Heliactis bellis* ont un noyau du type dinocaryon, un cytoplasme renfermant des granules colorés pouvant prendre l'allure de chloroplastes et une vacuole contenant un corps sidérophile pouvant bien être l'équivalent d'un pyrénioïde (**Naville**.)

J'ai montré (1931) qu'on pouvait inoculer expérimentalement les Xanthelles d'Actinie aux Éolidiens.

RECHERCHES PERSONNELLES

A. — CYTOLOGIE DES XANTHELLES D'*ÆOLIDIELLA GLAUCA*.

Æ. glauca renferme souvent des Xanthelles dans ses cellules hépatiques. Il arrive même que le tissu hépatique en soit complètement bourré. Leur nombre varie de 1 à 5 par cellules; elles sont régulièrement sphériques et mesurent de 6 à 8 μ de diamètre en moyenne

pouvant atteindre 10 μ , exceptionnellement il s'en trouve de 2 à 3 μ seulement. Elles sont toujours envacuolées.

a) *Membrane*. — Le cytoplasme est délimité à l'extérieur par une membrane qui, sur les coupes, apparaît comme un trait plus ou moins épais; parfois, cette membrane est réduite à une simple pellicule à peine visible. Quelle que soit son épaisseur, elle est toujours

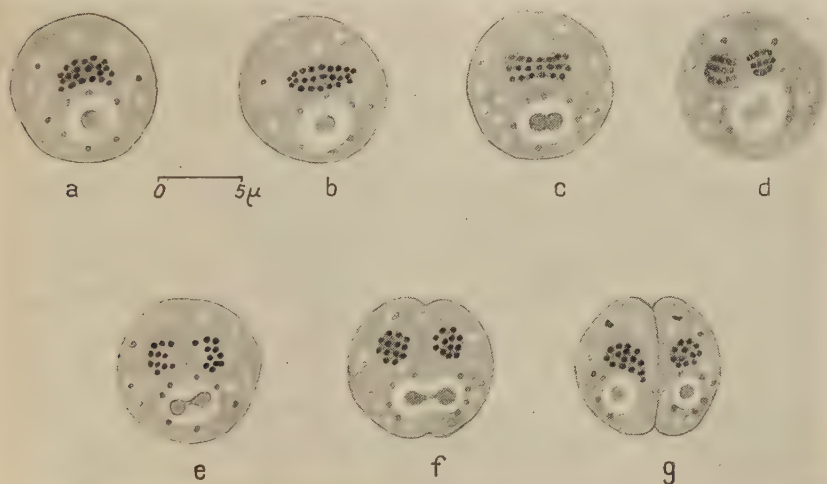


FIG. 14. — Xanthelles d'*X. glauca*. Division du noyau et du pyrénoloïde.

a, stade quiescent; b et c, prophase; d, métaphase; e, anaphase; f et g, télophase (fix. Brasil, color. Hématoxyline ferrique-éosine).

suffisamment résistante pour empêcher toute déformation de la Xanthelle.

La membrane est insoluble dans l'acide chlorhydrique pur, l'acide azotique pur, l'acide acétique. L'action un peu prolongée de l'acide sulfurique la fait disparaître. La potasse et la soude sont sans action. J'ai utilisé les méthodes préconisées par **Mangin** pour l'étude des membranes végétales : l'acide iodhydrique fumant et iodé dissout rapidement la membrane lorsqu'on le fait agir brutalement; en le faisant pénétrer par capillarité entre lame et lamelle, il agit progressivement et donne une coloration violette. L'action successive du Lugol faible et de l'acide sulfurique fait apparaître une coloration bleue caractéristique. Ces diverses réactions per-

mettent de conclure que la membrane des Xanthelles est formée, en partie tout au moins, de cellulose.

b) *Constituants du cytoplasme.* — Le cytoplasme renferme : un pyrénioïde, un chondriome, des vacuoles, des grains de volutine, des produits du métabolisme : grains d'amidon (ou une substance voisine), grains biréfringents et graisse, enfin des pigments.

Le pyrénioïde. — Les Xanthelles possèdent toujours une vacuole, parfois deux, de taille relativement grande, renfermant un corpuscule acidophile : celui-ci se colore bien par l'éosine et se montre très fuchsinophile avec les techniques de Mallory, le trichromique de Masson, le Dietrich-Parat-Volkonsky ; il se colore en gris par l'hématoxyline au fer, en rose par le Giemsa, etc.

Ce corpuscule peut augmenter de volume et occuper presque toute la vacuole et dans ce cas il atteint presque la taille du noyau, il devient alors très sidérophile, mais on ne peut pas dire qu'il soit basophile, il est seulement moins acidophile car il ne se colore jamais en bleu par le Giemsa ni avec la méthode de Parat-Volkonsky par laquelle il se colore en rouge très pâle ou en jaune rougâtre (fig. 15, a).

Je considère le corpuscule acidophile envacuolé comme étant un pyrénioïde, et ceci pour plusieurs raisons : c'est un organe constant, j'ai pu observer des figures de division, fait non encore signalé et sur lequel je reviendrai plus loin, enfin il y a assez souvent, à la périphérie de la vacuole, des grains d'amidon (fig. 14 et 15). Ces grains sont généralement plus abondants lorsque le corpuscule central est devenu sidérophile et peuvent même former une auréole autour de la vacuole (fig. 15, a).

Il est possible que le pyrénioïde des Xanthelles d'*Æ. glauca* corresponde aux inclusions sidérophiles vues par **Hovasse** et **Naville** chez d'autres Xanthelles. Il est assez remarquable que ce pyrénioïde rappelle tout à fait celui figuré par de nombreux auteurs chez les Chlamydomonadinées, et les Polyblépharidées.

Chondriome. — Il est représenté par des mitochondries et des chondriocontes (fig. 15, a et b).

Vacuoles. — En dehors du pyrénioïde, le cytoplasme renferme d'autres vacuoles dont la taille et le nombre sont variables; elles sont toujours plus petites que celle dans laquelle se trouve le pyrénioïde. Tantôt elles sont très nombreuses, et tantôt il n'y en a que quelques-unes; le plus souvent réparties sans ordre dans le cytoplasme, elles s'accumulent parfois à la périphérie de la cellule. Il est impossible d'affirmer si ces vacuoles appartiennent au vacuome des cytologistes car les colorations vitales au rouge neutre et les imprégnations métalliques ne m'ont pas donné d'images démonstratives.

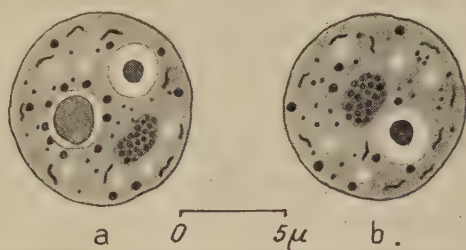


FIG. 15. — Xanthelles d'*Æ. glauca*. Technique de Dietrich-Parat-Volkonsky. Vacuoles. Chondriome. Grains d'amidon. Pyrénioïde. En *a*, pyrénioïde avec une grosse inclusion intravacuolaire et une auréole de grains d'amidon.

Les vacuoles sont bien conservées par les méthodes mitochondriales et les fixateurs acides. Sur les coupes, on en trouve de vides, la plupart renfermant des inclusions qui se présentent sous la forme d'un petit corpuscule sphérique ou allongé plus ou moins acidophile ou même basophile; avec l'hématoxyline au fer, les uns se colorent en gris, d'autres retiennent énergiquement le colorant. Enfin, il y a aussi quelques vacuoles qui contiennent des granules métachromatiques.

Métachromatine. — On sait que la métachromatine, ou volutine, se colore, après la plupart des fixateurs, d'une façon métachromatique avec de nombreux colorants basiques d'aniline bleus ou violets.

Elle fait virer ces colorants au rouge (**Guillermond**, 1908, 1910, 1933). Les corpuscules métachromatiques n'ont pas été vus chez les Xanthelles : ils sont faciles à reconnaître dans les Algues

symbiotiques d'*Æ. glauca*. Après fixation par l'alcool absolu et coloration par le bleu de toluidine, la thionine, le bleu de méthylène ou le vert de méthyle, ils apparaissent sous la forme de petits grains irréguliers colorés en rouge vineux et presque toujours accolés à la paroi de la vacuole.

Grains d'amidon. — Les pigments des Xanthelles ne permettent pas d'apprécier les colorations obtenues avec le réactif iodo-ioduré. J'ai utilisé des frottis desséchés et décolorés par l'alcool à 90°. L'iode colore alors des granulations en brun foncé ou en bleu violacé. Souvent, la coloration bleu n'apparaît pas. Si après avoir coloré les Xanthelles par le Lugol faible, on fait passer entre lame et lamelle de l'acide sulfurique très dilué, on colore des grains en bleu (faits observés aussi par **Geddes**); ces grains peuvent être épars dans le cytoplasme ou groupés de façon à former une auréole autour du pyrénocle. Des grains se colorent en bleu violacé par l'acide iodhydrique dilué.

Ces grains peuvent être vus sur les coupes. Après fixation à l'alcool absolu, au Helly, ou même au Brasil, ils se colorent en brun par l'iode, en gris par l'hématoxyline au fer. Ils sont bien conservés par la fixation de Dietrich-Parat et surtout par le Regaud; après ces fixateurs, le Volkonsky les colore en bleu verdâtre (fig. 15). (Pour la coloration de l'amidon sur les coupes : **Guillermond**, 1912 et **Milovidov**, 1928).

Grains biréfringents. — Dans le cytoplasme des Xanthelles, il y a des corpuscules très réfringents en lumière naturelle, biréfringents en lumière polarisée. Ils ont l'aspect de petits cristaux ovoïdes, polygonaux ou plus ou moins irréguliers. Ils sont tantôt peu nombreux, tantôt abondants, isolés ou groupés en amas; ils peuvent masquer complètement la structure de la cellule. Ils sont conservés par le Brasil, sont solubles dans l'alun de fer, insolubles dans l'ammoniaque (ils ne sont donc pas formés de xanthine que NH_3 dissout facilement); ils sont dissous par l'hydrate de pipérazine, ils noircissent par la méthode de Courmont et André (cette dernière réaction a été constatée par **Henneguy** pour les grains réfringents des Xanthelles de *Spurilla neapolitana*). On peut donc penser que les

grains biréfringents des Xanthelles d'*Æ. glauca* sont formés par une substance voisine de l'acide urique ou des urates.

Graisse. — La graisse se présente sous la forme de boules de grosseur variable, les plus grosses atteignant la moitié du volume du noyau; ces boules ne sont jamais très nombreuses. J'ai usé de trois méthodes pour déceler la substance qui les forme : le Flemming, le Benoît et les imprégnations osmiques.

Pigments. — Les Xanthelles examinées vivantes ont une coloration générale variant du jaune verdâtre au brun foncé. Les pigments imprègnent tout le cytoplasme, mais la coloration n'est pas toujours homogène, parfois plus intense à la périphérie qu'au centre, présentant de petites plages plus foncées que le reste du cytoplasme, mais jamais on ne voit de formations bien individualisées pouvant être homologuées à des chromatophores.

Les Xanthelles possèdent deux sortes de pigments : des carotinoïdes et de la chlorophylle. Lorsqu'on traite par de l'alcool à 90° un frottis desséché de Xanthelles venant d'être préparé, l'alcool se colore rapidement en brun jaune; si l'on examine alors la préparation après lavage, on constate que les Xanthelles sont vertes; cette coloration verte disparaît d'ailleurs si l'on fait agir à nouveau l'alcool pendant au moins une demi-heure.

En broyant des papilles d'*Æ. glauca* dans de l'alcool à 90° ou l'éther, j'ai pu extraire ces pigments. Les animaux furent toujours choisis parmi ceux dont les papilles étaient fortement colorées en brun, fait qui indique que les cellules hépatiques sont bourrées de Xanthelles. Les tissus broyés sont laissés en contact avec le solvant pendant une dizaine de jours dans des flacons bien bouchés et conservés à l'obscurité. L'alcool prend au bout de quelques heures une teinte foncée, tandis que l'éther n'acquiert une coloration marquée qu'au bout d'une semaine. Les liquides sont filtrés au bout des dix jours; la solution alcoolique est jaune orangée, la solution éthérée est vert jaune.

On peut toujours séparer de l'une ou de l'autre de ces solutions deux liquides dont l'un renferme surtout de la chlorophylle tandis que l'autre est surtout riche en carotinoïdes. Par exemple, en agitant

la solution éthérée avec du sulfure de carbone, on sépare les deux catégories de pigments : à la partie inférieure se trouve le sulfure de carbone qui a surtout extrait la chlorophylle de la solution éthérée dont la couleur tire alors davantage sur le jaune orangé. Après plusieurs agitations successives et changement de sulfure de carbone après repos du liquide, la solution éthérée arrive à ne plus présenter de fluorescence rouge appréciable : la majeure partie de la chlorophylle a été extraite par le sulfure de carbone qui, lui, présente une fluorescence rouge nette. La solution éthérée a retenu les portions caratinoïdes, évaporée, elle laisse un résidu brun rougeâtre qui avec SO^4H^2 ou NO^3H donne une coloration bleu verdâtre caractéristique.

L'examen spectroscopique a donné les résultats suivants¹ :

1° *Solution éthérée.*

Absorption : une bande dans le rouge, très nette, dont l'axe varie de λ 660 à 661. A partir de 500, l'absorption va en croissant vers l'ultra-violet.

Fluorescence : une bande dans le rouge d'axe λ 662 et une bande dans le vert très étalée.

2° *Solution alcoolique.*

Absorption : une bande dans le rouge d'axe λ 663,5, très sensiblement plus faible, à épaisseur égale, que dans le premier cas. A partir de λ 530, l'absorption va croissant vers l'ultra-violet.

Fluorescence : une seule bande faible dans le rouge et une large bande diffuse dans le vert.

On peut conclure, que du point de vue spectral, ces liqueurs se présentent comme des solutions de chlorophylle brute. Le rapport de la quantité de chlorophylle proprement dite à la portion carotinoïde de la chlorophylle brute n'est pas le même dans les deux solutions. Les intensités respectives des bandes d'absorption et de fluorescence, ainsi que la couleur des solutions indiquent que ce rapport est plus faible dans la solution alcoolique que dans la solution éthérée : l'alcool s'est vraisemblablement dilué au contact des tissus broyés et a dissous surtout les carotinoïdes.

1. Je remercie bien sincèrement **M. Maurice Fontaine** qui a bien voulu se charger de l'analyse spectroscopique de mes solutions et me communiquer les résultats ci-dessus, ainsi que de précieux renseignements sur l'interprétation de cette analyse.

Quant à la chlorophylle proprement dite, elle est représentée uniquement ou presque uniquement dans les deux solutions par de la chlorophylle α ; les bandes d'absorption et de fluorescence trouvées dans le rouge coïncident en effet avec celle de cette chlorophylle, ainsi qu'on peut s'en rendre compte en comparant la position des axes observés dans l'analyse spectroscopique des pigments des Xanthelles avec les chiffres donnés par **Dhéré** et **Fontaine** (1931) pour la chlorophylle α pure.

Il faut remarquer qu'il n'y a pas de bandes se rapportant à la chlorophylle β .

c) *Noyau*. — Le noyau occupe la portion centrale du cytoplasme, mais assez souvent il est excentrique. Sur les coupes, il se montre circulaire ou elliptique, plus fréquemment il est réniforme, la face concave tournée vers le pyrénioïde (fig. 14, a) dont il est parfois très proche, semblant le coiffer. Sa structure est typique : c'est un *dinocaryon* (**Chatton**), sans membrane, et formé de granulations chromatiques plus ou moins irrégulières dont le nombre oscille autour de 20 (18-23), et qui sont plongées dans une zone protoplasmique légèrement basophile et sidérophile, nettement distincte du reste du cytoplasme qui est, lui, acidophile. Il n'y a pas de nucléole.

d) *Cinèse*. — Les Xanthelles se multiplient dans les cellules hépatiques. Les divisions sont rares sur certaines coupes, très nombreuses sur d'autres. En comparant un grand nombre d'images, j'ai pu sérier les diverses étapes de la division. A aucun moment, je n'ai pu déceler un centrosome, malgré l'emploi de techniques les plus diverses.

Au début de la cinèse, les granulations chromatiques qui étaient réparties sans ordre dans le noyau quiescent, se placent en files dont le nombre est assez constant, 3 presque toujours (fig. 14, b), rarement 4. Au début, leur ensemble prend la forme d'un fuseau, puis celle d'un biscuit (fig. 14, c). Lorsqu'après coloration à l'hématoxyline au fer, la différenciation n'est pas suffisante, les grains semblent fusionnés et sont disposés en trois filaments moniliformes; lorsque la différenciation est bien faite, on constate que les grains,

toujours intensément colorés, sont écartés les uns des autres, mais qu'ils ne conservent qu'en partie leur individualité. Ils sont en effet, nettement réunis les uns aux autres par une substance un peu plus basophile et sidérophile que la zone protoplasmique appartenant au noyau, elle se colore en gris foncé par l'hématoxyline au fer, en violet pâle par le violet de Gentiane. On peut donc dire qu'à ce stade, il y a formation de trois chromosomes, dont les éléments sont les granulations chromatiques, homologables aux *chromomères* signalés par **Chatton** (1920) chez les Péridiniens. Ces stades *b* et *c* constituent si l'on veut la *prophase*. Dans un stade plus avancé ou *métaphase*, ces trois chromosomes se divisent transversalement suivant un plan équatorial. Au début les chromomères sont encore groupés en chromosomes (fig. 14, *d*), mais bientôt ils reprennent leur individualité complète (fig. 14, *e*) et forment deux amas qui s'écartent et entre lesquels le cytoplasme est strié : c'est l'*anaphase*. La striation disparaît, les deux noyaux-fils sont constitués (*f*). Une membrane se forme dans le plan équatorial de la cellule (*télophase*) et un étrangement, s'accroissant de plus en plus, sépare les deux cellules-filles (*g*).

Pendant la durée des phénomènes nucléaires, j'ai observé la division du pyrénioïde (dont la figure 14 illustre les diverses phases) qui se fait dans le même plan que celle du noyau. Il ne faudrait pas croire que ces deux divisions soient toujours synchrones : fréquemment on voit un noyau au repos et un pyrénioïde en division; ou bien le contraire, un noyau en cinèse et un pyrénioïde au repos, et dans ce cas, il arrive que l'une des cellules-filles ne possède pas de pyrénioïde; comme toutes les Xanthelles adultes en possèdent un, on est en droit de se demander si cet organite ne pourrait pas se former *de novo*.

e) *Éviction épuratrice, Chromidies*. — Dans certaines Xanthelles présentant un noyau quiescent, on observe quelques grains chromatiques formant un petit amas plus ou moins rapproché du noyau, tantôt nettement isolé de celui-ci, tantôt relié à lui par du protoplasme strié ou par une traînée chromatique (fig. 16, *a*, *b*). Il est manifeste que ces grains, de même grosseur que les chromomères et se colorant comme eux par l'hématoxyline au fer et le violet de

gentiane, sont issus du noyau. Je pense que ce fait doit être rapproché de ce que **Chatton** (1925) a désigné sous le terme d'*éviction épuratrice* du noyau, phénomène observé chez de nombreux Protozoaires; il est sans rapport avec la réduction chromatique et **Chatton** a insisté sur la différence qu'il y a lieu de faire entre une *éviction épuratrice* ou de triage et une *éviction méiotique*.

Quelle est la destinée des grains chromatiques chassés du noyau? Ils s'éloignent du noyau et deviennent envacuolés (fig. 16, b). Ils sont homologables aux chromidies signalées chez un certain nombre

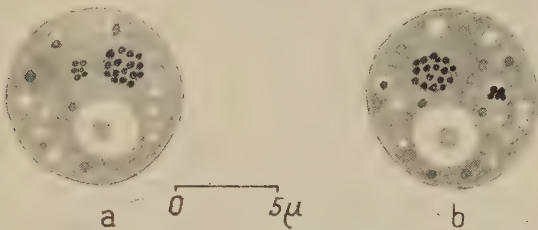


FIG. 16. — Xanthelles d'*Æ. glauca*.

a et *b*, deux phases dans la formation des chromidies. Présence de vacuoles renfermant une granulation sidérophile (fix. Brasil, color. hématoxyline ferrique).

de Protistes. On sait que sont désignées sous ce nom des formations les plus diverses d'origine nucléaire ou cytoplasmique. Il serait souhaitable que ce mot « chromidie » soit réservé seulement aux formations d'origine nucléaire ayant les mêmes propriétés chimiques que la chromatine. Quant à la destinée de ces granules chromatiques, je ne puis émettre que des hypothèses. Peut-être sont-ils résorbés, peut-être ont-ils aussi quelque rapport avec la genèse de la volutine. Dans certaines Xanthelles colorées à l'hématoxyline au fer (fig. 14 et 16) on voit des vacuoles dont les inclusions plus ou moins sidérophiles présentent le même aspect que les grains métachromatiques vus sur des coupes de Xanthelles colorées par des colorants d'aniline. **Meyer** (1904) considère la volutine comme un dérivé de l'acide nucléique. **Swellengrebel** (1908) a montré que les grains de volutine des Trypanosomes étaient d'origine nucléaire et devaient être regardés comme des chromidies. **Reichenow** (1909) a fait

remarquer que chez les Protozoaires les chromidies pouvaient fort bien être une simple catégorie de vultine (voir aussi **Guillermond**, 1933).

En résumé, les Xanthelles d'*Æ. glauca* possèdent les principaux caractères suivants : une membrane cellulosique, des pigments carotinoïdes et de la chlorophylle α répandus dans tout le cytoplasme, des granulations métachromatiques, des granulations biréfringentes formées d'une substance voisine de l'acide urique, un pyrénôïde, des grains d'amidon, un noyau du type dinocaryon présentant un nombre assez constant de chromomères. La cinèse est une dinomitose, caractérisée par la formation de trois chromosomes orientés presque parallèlement et qui se scindent transversalement à la métaphase.

B. — SYMBIOSE DES XANTHELLES ET DES EOLIDIENS.

J'ai montré (1931) que l'on pouvait provoquer facilement l'infestation des Eolidiens par les Xanthelles en les nourrissant d'Actinies. J'ai indiqué aussi (1934) que les cellules à Xanthelles avaient la même structure que les cellules à ferments et qu'elles correspondaient aux cellules à « sphère brunes » de **Hecht**. Il est nécessaire de revenir sur ces faits pour en préciser et en développer quelques points, pour y apporter aussi quelques observations nouvelles sur la symbiose de ces Algues avec les Eolidiens, symbiose qui n'a fait jusqu'ici l'objet d'aucune recherche.

a) *Cellules à Xanthelles*. — Les cellules à Xanthelles d'*Æ. glauca* sont celles décrites et dessinées par **Hecht**, dans la même espèce, sous le nom de cellules excrétrices à « sphère brunes ». En examinant les figures 35 et 37, planche III de son travail, il est facile de reconnaître les Xanthelles dans les « sphères brunes »; dans ces prétendues boules d'excrétion, l'auteur a figuré des enclaves et parmi celles-ci, on retrouve aisément, dans quelques « sphères brunes », le noyau et un ou deux pyrénôïdes. Il est donc assez surprenant que l'auteur n'ait pas pensé qu'il s'agissait là d'organismes vivants.

Les cellules à Xanthelles ne constituent pas une catégorie spéciale de cellules : ce sont des cellules hépatiques (= cellules à ferments) dans lesquelles les Algues peuvent pénétrer, vivre et se multiplier.

L'étude cytologique du tissu hépatique montre en effet que la structure des cellules hépatiques et des cellules à Xanthes est fondamentalement la même. Cela est manifeste lorsqu'on s'adresse à une cellule ne renfermant qu'une seule Xanthe : avec les techniques mitochondriales et d'imprégnation osmique on y retrouve les mêmes constituants cytoplasmiques que dans la cellule hépatique : zone de Golgi, amas mitochondriaux basal et apical, et les boules de sécrétion.

De plus, sur des coupes de papilles d'individus différents, on trouve des cæcums hépatiques dont tous les éléments cellulaires sont dépourvus d'Algues symbiotiques, d'autres en renferment tellement que seuls les xanthinocytes, les cellules vacuolaires et les cellules indifférentes en sont exempts, enfin, il y a aussi des images intermédiaires (fig. 1) montrant des cellules hépatiques avec ou sans Xanthes.

b) *Origine des Xanthes*. — La contamination naturelle des Éolidiens ne se fait pas suivant les mêmes processus que chez les Coelentérés et les *Convoluta*. On sait que chez les Coelentérés la contamination se fait dès l'œuf, et que les jeunes *Convoluta* sont contaminées non dans l'œuf mais, jeunes, par les flagellispores. D'après **Hovasse** (1923), la propagation de *Zooxanthella Chattoni* à l'intérieur des Velelles pourrait se faire grâce à un cycle endogène du parasite qui comprendrait des spores et des formes amiboïdes; d'après **Alvarado S.** (1934) la propagation des Xanthes dans une Méduse, *Cassiopea borbonica*, se ferait par l'intermédiaire de cellules embryonnaires amiboïdes ou *phycocytes*.

De tels faits n'existent pas chez les Éolidiens; il n'y a pas de stades flagellés, les Xanthes sont localisées uniquement dans l'épithélium des cæcums hépatiques où elles se multiplient par bipartition, les œufs d'Éolidiens ne sont jamais contaminés. La présence des Algues symbiotiques ne peut donc s'expliquer que d'une seule façon : ces symbiotes sont apportés avec les proies coelentériennes ingérées. Les études cytologiques et expérimentales vérifient ce fait.

Au Croisic, *Æ. glauca* vit en abondance près du port où le fond est vaseux, le plus souvent et en grande abondance sous les cailloux

où est fréquente une espèce d'Actinie, *Cylista undata* Müll. J'ai pensé alors que l'Éolidien pouvait se contaminer en se nourrissant aux dépens de cette Actinie.

L'étude des Xanthes de *Cylista undata* à l'aide des mêmes techniques que celles qui ont été employées pour l'étude des Xanthes d'*Æ. glauca*, permet d'en faire une description qu'il est tout à fait inutile de répéter ici, car elle est absolument identique à celle des symbiotes d'*Æ. glauca* : mêmes enclaves, un ou deux pyrénoides, un dinocaryon formé d'une vingtaine de granulations, une dinomitose caractérisée ici encore par la formation de trois chromosomes, etc.

L'infestation expérimentale a été réalisée de trois façons : 1° Il fallait d'abord choisir des Éolidiens dépourvus de Xanthes, bien qu'on ne soit jamais sûr, évidemment, que les animaux choisis en soient complètement privés. Qu'ils en renferment quelques-unes a d'ailleurs peu d'importance : les résultats seront quand même suffisamment probants, car il est trop facile de constater les différences que présentent les papilles avant et après l'expérience. On reconnaît qu'un Éolidien possède plus ou moins de Xanthes à la coloration brune plus ou moins foncée ou noirâtre des cæcums hépatiques, alors richement pourvus, ou bien jaune verdâtre très clair, des cæcums pauvres en Xanthes. La coloration verdâtre, souvent masquée par le brun des Xanthes est due en partie à l'abondance des sphérocristaux de xanthine.

Les Éolidiens choisis parmi ceux qui présentent des papilles peu colorées sont nourris avec des fragments de *Cylista undata* ou avec de jeunes Actinies sortant de l'organisme maternel. Dès qu'ils ont ingéré une petite quantité de nourriture, ils sont isolés. Leurs cæcums deviennent rapidement bruns et sur les tissus vivants ou sur les coupes on constate que les cellules hépatiques renferment de nombreuses Xanthes.

2° Des exemplaires possédant des cæcums brun foncé, donc remplis d'Algues ont été laissés sans nourriture pendant un mois. Au bout de ce laps de temps, les cæcums sont décolorés et dépourvus de Xanthes. Nourris alors comme dans l'expérience précédente, ils présentent à nouveau de nombreuses Algues symbiotiques dans leurs cellules hépatiques.

3^o Des Éolidiens dont les papilles étaient décolorées ont été laissés à jeûn deux jours pour qu'on ait l'assurance que leur tube digestif ne renfermait plus d'aliments. Les papilles de toute la moitié antérieure de leur corps ont été arrachées. Au bout d'un mois, ces papilles sont complètement régénérées et certaines atteignent 3 à 4 millimètres de longueur. Les Éolidiens sont alors répartis en deux lots : l'un est laissé toujours sans nourriture et l'autre reçoit de petits morceaux d'Actinie. Sur les coupes faites de tous ces animaux, on constate que les papilles régénérées des individus du premier lot sont totalement dépourvues d'Algues, tandis que celles des individus du second lot en sont remplies.



FIG. 17. — Pénétration des Xanthelles dans les cellules hépatiques (*Æ. glauca*) (fix. Bouin, color. hématoxyline ferrique-éosine).

De ces expériences, il résulte qu'*Æ. glauca*, en s'alimentant aux dépens de *Cylista undata*, absorbe les Xanthelles de cette Actinie et que ces Algues pénètrent dans les cellules hépatiques.

c) *Pénétration des Xanthelles dans les cellules hépatiques.* — Elle se fait rapidement et pour l'observer il faut fixer les animaux une demi-heure environ après l'ingestion. L'Algue peut passer dans l'épithélium hépatique suivant deux modes : soit par le pôle apical des cellules, soit en s'insinuant entre deux cellules, le premier cas étant le plus fréquent. Les processus sont les mêmes dans les papilles normales et dans les papilles régénérées (fig. 13 et 17). Lorsqu'une Xanthelle arrive au contact d'une cellule hépatique, l'extrémité

distale de celle-ci qui, normalement, est aplatie ou convexe, s'incurve vers l'intérieur, la concavité s'accroissant de plus en plus à mesure que l'Algue pénètre davantage, et bientôt celle-ci se trouve enfermée dans une vacuole, au sein du cytoplasme. Dans la plupart des cas, je n'ai pu observer la trace des cils vibratiles. Quelques images cependant montrent des Xanthelles maintenues par les cils, ceux-ci étant appliqués sur l'Algue et l'extrémité de la cellule formant également une concavité; les cils sont relativement larges et sans contours nets, les granulations basilaires disposées irrégulièrement. Ce stade représente la phase d'attachement; dans une période plus avancée les cils se fusionnent avec le cytoplasme. Ces processus doivent être très rapides, cela expliquerait pourquoi généralement on ne voit pas de cils sur les préparations.

d) *Rapports entre les Xanthelles et leur hôte.* — J'ai déjà indiqué que la présence d'une seule Xanthelle dans une cellule ne modifiait pas sensiblement la structure de celle-ci qui continue à exercer sa fonction sécrétrice comme le prouve la présence des boules de sécrétion. Lorsque la cellule est habitée par plusieurs Algues, il en résulte une altération, ou tout au moins une modification des constituants morphologiques du cytoplasme de la cellule : la zone de Golgi n'est plus visible, le chondriome est représenté par des mitochondries et des chondriocones en petit nombre répartis sans ordre, il n'y a plus de boules de sécrétion. Le plus souvent, il n'a pas hypertrophie des cellules et le noyau reste normal, parfois cependant, celui-ci est refoulé en un point quelconque de la cellule et dégénère; il en est bientôt de même de la cellule tout entière.

Les Xanthelles qui ont pénétré dans les cellules ne sont pas phagocytées; dans quelques cas très rares, aussi bien chez les Éolidiens contaminés naturellement que chez ceux qui l'ont été expérimentalement, l'Algue est tuée, déformée et son noyau tombe en pycnose.

Ce qui est donc très net ici, c'est que la dégénérescence des Xanthelles et des cellules qui les hébergent est exceptionnelle; d'une façon générale, les Algues et les cellules hépatiques restent vivantes, et la multiplication des symbiotes a pour conséquence de suspendre la fonction sécrétrice des cellules à ferments.

L'hôte cependant réagit. Mais la réaction consécutive à la conta-

mination ne se traduit pas par un phénomène de phagocytose que l'on observe si souvent dans un tissu envahi par un parasite. L'Éolidien se débarrasse tout simplement d'une partie de ses Xanthelles : celles qui sont expulsées tombent dans l'intestin et sont rejetées au dehors avec les excréta. L'expulsion des Algues est continue et peut être observée aussi bien expérimentalement que sur les coupes. Des Éolidiens contaminés expérimentalement comme il a été dit plus haut, ou bien des Éolidiens venant d'être capturés et possédant des cæcums remplis d'Algues, sont laissés à jeûn. Les animaux rejettent des excréta, la quantité de ceux-ci diminue progressivement et leur coloration s'atténue en passant du brun foncé au jaune clair à mesure que l'expérience se prolonge. Les excréta sont colorés par les Xanthelles et leur changement de coloration au cours du jeûne est la conséquence d'une diminution du nombre de Xanthelles expulsées. Corrélativement à ces faits, on constate une décoloration marquée des cæcums. Sur les coupes les images montrant l'expulsion des Algues ne manquent pas.

Si l'expérience n'est pas trop prolongée, jusqu'à huit jours environ les Xanthelles qui sont restées dans les cellules, comme celles qui ont été mises en liberté, présentent une structure normale, sont vivantes et pas du tout altérées par leur séjour dans les tissus et le tube digestif de l'Éolidien.

Doit-on considérer l'association des Xanthelles et de l'Éolidien comme étant une symbiose mutualiste au sens de **A. de Bary**? Autrement dit, l'Algue et l'animal trouvent-ils un réel profit à vivre associés?

Nous savons que les Xanthelles possèdent de la chlorophylle α unie à d'autres pigments et de l'amidon, il est logique de penser qu'il y a photosynthèse et que l'oxygène qui se dégage puisse être utilisé. Si l'Algue est utile à l'Éolidien, on peut penser que l'Éolidien est également utile à l'Algue. Celle-ci vit dans des tissus qui la protègent, lui fournissent du gaz carbonique et sont suffisamment transparents pour lui permettre d'utiliser les radiations solaires nécessaires à la photosynthèse. Elle se trouve dans les meilleures conditions possibles pour recevoir des aliments azotés ou autres, déjà solubilisés et digérés, puisqu'elle vit dans les

cellules hépatiques qui sont en même temps des cellules absorbantes.

On peut rapprocher cette vie en commun de l'Algue et de l'Éolidien des associations symbiotiques bien connues entre les Zoochlorelles ou les Zooxanthelles et certains animaux. **Brandt** (1883) a admis que l'oxygène et l'amidon produits par les Zooxanthelles étaient utilisés par l'animal qui les héberge (Radiolaires et Cœlentérés). **Geddes** (1882) a montré que les animaux à Zooxanthelles ou à Zoochlorelles dégagent de l'oxygène, et, comme **Brandt** il a admis que cet oxygène et l'amidon servaient à l'animal. Pour **Thiel** (1929), les Xanthelles produisent de l'oxygène utilisé par les Coralliaires pour l'édification de leur squelette. D'après **Keeble** et **Gamble** (1907), les Zoochlorelles des *Convoluta* seraient capables d'utiliser l'acide urique et l'urée, constituant pour l'animal un système excréteur; cette idée se trouve exprimée dans les travaux de **Geddes** (1882), **Fulton** (1921), **Boschma** (1925), etc...

Si l'association intime des Xanthelles avec l'Éolidien assure à l'un et aux autres des avantages réciproques, elle ne constitue pas cependant une parfaite symbiose, car elle n'est ni constante ni durable. Tous les individus ne sont pas contaminés. De plus, lorsqu'ils le sont, ils peuvent digérer leurs Xanthelles s'il y a pour eux pénurie d'aliments. C'est ce que montre l'expérience complétée par l'examen histologique.

On refait les expériences citées plus haut pour montrer que les Éolidiens expulsent une partie de leurs symbiotes, mais en prolongeant le jeûne jusqu'à une quinzaine de jours ou même jusqu'à un mois. Au bout d'un mois, les excreta sont devenus très peu abondants et comme je l'ai déjà dit, l'examen des coupes montre qu'il n'y a plus de Xanthelles. Au bout de quinze jours seulement, les excreta, qui sont également peu colorés, contiennent encore des Xanthelles déformées et de nombreux petits cristaux biréfringents analogues à ceux que possèdent les Algues symbiotiques. L'examen des coupes faites sur des Éolidiens fixés alors donne l'explication de ces faits. Les cellules hépatiques renferment des vacuoles contenant des agglomérations de petits cristaux biréfringents; il y a aussi des Xanthelles, mais presque toutes déformées, les granulations chromatiques sont invisibles, parfois on peut encore reconnaître le pyrénoïde (fig. 18). Tous les termes de passage existent entre des

Xantheilles presque normalement constituées et les vacuoles ne renfermant plus que des cristaux biréfringents : les Algues ont été digérées et ces vacuoles à granules biréfringents représentent la phase ultime de la digestion intracellulaire des Xantheilles. Ce sont ces cristaux et les Algues plus ou moins complètement digérées qui, rejetés par les cellules, se retrouvent dans l'intestin et dans les excréta.

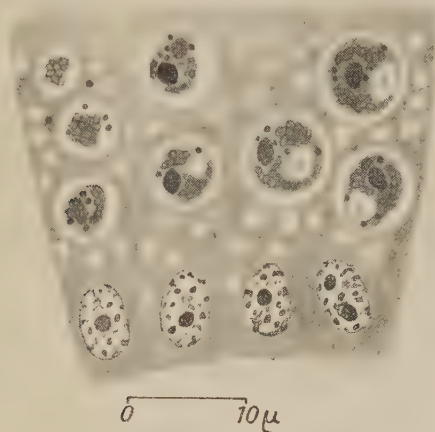


FIG. 18. — Digestion intracellulaire des Xantheilles (*A. glauca*) dans les cellules hépatiques d'un individu maintenu à jeun pendant une quinzaine de jours (fix. Bouin, color. au Giemsa).

Ainsi donc, dans une période de disette, l'Éolidien se nourrit au dépens de ses Xantheilles.

Cette étude nous explique aussi l'origine des grains biréfringents envacuolés que l'on trouve dans les cellules hépatiques; leur identité avec les grains d'excrétion des Xantheilles pouvait faire penser en effet que ces Algues absorbaient les grains d'acide urique des cellules hépatiques.

Il faut remarquer que les Xantheilles qui pénètrent dans le tissu hépatique des Éolidiens renferment déjà des grains d'excrétion. Les symbiotes de *Cylista undata* possèdent des petits cristaux biréfringents qui, comme je l'ai déjà signalé, ont les mêmes propriétés que ceux des Xantheilles d'*A. glauca* : ils sont formés d'acide urique ou d'urates. Or, chez les Actinies on a signalé des corps xanthiques, mais pas d'acide urique (**S. Mouchet**, 1930), sauf chez *Anemonia*

sulcata (Sulima, 1913, cité par H. Delaunay, 1931). Il faut donc admettre que les granulations d'acide urique que l'on trouve dans les Xanthelles de *Cyclista undata* et d'*Æ. glauca* sont bien des produits élaborés par ces Algues. Mais il est difficile de préciser aux dépens de quelles substances se fait cette élaboration : ou bien la synthèse des grains d'excrétion des Algues se fait à partir des produits azotés de désassimilation de l'hôte (urée¹ ou xanthine), ou bien cette synthèse se fait aux dépens des produits solubles azotés se formant au cours des processus de digestion chez l'animal parasité. La situation des Xanthelles dans les cellules absorbantes des Éolidiens rend admissible cette dernière hypothèse.

En résumé, l'association des Xanthelles et de l'Éolidien peut être considérée comme une symbiose tant que l'animal a de la nourriture à sa disposition : il est vraisemblable en effet que de cette vie commune, l'Algue et l'animal tirent des bénéfices réciproques, mais, en cas de famine, l'Éolidien vit aux dépens de ses Xanthelles : à la symbiose succède alors un cas de parasitisme; l'animal étant venu parasite de ses Algues.

L'association est obligatoire pour l'Algue : on ne connaît pas en effet de Xanthelles libres; elle est au contraire facultative pour l'Éolidien : il n'en manque pas qui ne sont pas contaminés.

Des faits assez semblables à ceux qui viennent d'être signalés chez les Éolidiens sont bien connus chez d'autres animaux. Keeble et Gamble (1907) ont montré que les *Convoluta* sont parasites de leurs Algues. D'après Famintzin (1889-1891), les Actinies, en cas de famine, digèrent leurs symbiotes. Fulton (1921-1922) a aussi émis l'idée que les Anémones vivent en parasite sur leurs Algues. Boschma (1925) a établi que les Polypes se nourrissent en grande partie aux dépens de leurs Xanthelles, soutenant ainsi l'opinion de Gardiner, etc.

C. — LES XANTHELLES CHEZ DIVERSES ESPÈCES D'ÉOLIDIENS.

J'ai trouvé des Xanthelles dans les espèces suivantes : *Æolidiella croisicensis*, *Æolida papillosa*, *Favorinus albus* et *Spurilla neapolitana*. Toutes ces espèces ont été capturées au Croisic.

1. La présence de l'urée chez les Actinies a été signalée par Fosse (1913).

Les Xanthelles d'*Æ. croisicensis* sont rigoureusement identiques à celles d'*Æ. glauca*. J'ai pu contaminer expérimentalement *Æ. croisicensis* en réalisant sur cette espèce les trois séries d'expériences faites sur l'*Æ. glauca*.

Les Algues symbiotiques d'*Æ. papillosa* sont également semblables à celles d'*Æ. glauca*. Quelques exemplaires d'*Æ. papillosa* dépourvus de Xanthelles ont été nourris avec des fragments de *Cylista undata*. Sur les coupes on constate qu'il y a des Algues dans les cellules hépatiques.

Au moins pour ces trois espèces d'Éolidiens, on peut affirmer que les Xanthelles qui vivent dans leur tissu hépatique sont semblables et que les animaux se contaminent de la même manière : par l'ingestion de proies actiniennes.

Quant aux Algues symbiotes de *Favorinus albus* et de *Spurilla neapolitana*, je ne puis rien affirmer, car je n'ai eu à ma disposition qu'un très petit nombre d'individus et je n'ai pu faire sur eux aucune expérience. D'après les observations que j'ai faites, et d'après la description et les figures de **Henneguy**, il ne semble pas que les Xanthelles de ces deux espèces soient différentes de celles d'*Æ. glauca*.

D. — POSITION SYSTÉMATIQUE DES XANTHELLES.

Je ne ferai pas l'historique complet de cette question qui a fait l'objet d'un article important de **Hovasse** et de **Teissier** (1923). J'indiquerai seulement les faits essentiels.

Brandt (1881) a créé le terme de *Zooxanthella nutricula* pour désigner les Xanthelles d'un Radiolaire (*Collozoum inerme*). Plus tard (1885), il a rapproché les formes flagellées issues de certaines Xanthelles, de *Excuvella marina* qui est un Péridinien. **Schaudinn** (1900) a signalé que les Xanthelles extraites des Foraminifères acquièrent rapidement deux flagelles. Il a alors rapporté les Xanthelles au genre *Cryptomonas*. Deux espèces ont été décrites : *Cryptomonas brandti* Schaud. et *Cryptomonas schaudinni* Winter. **Pascher** (1911) a créé le genre *Chrysidella* (= *Zooxanthella* = *Cryptomonas*) et le rattache directement aux *Cryptomonadinées*. **Hovasse** et **Teissier** (1923), ont constaté que le noyau des Xanthelles des Protozoaires et des Coelentérés étudiées par les différents

auteurs et par eux-mêmes possèdent toujours un *dinocaryon* et que la division de ce noyau est une *dinomitose*. Ils apportent ainsi les premiers une preuve de l'unité des Xanthelles qu'ils placent parmi les Dinoflagellés dans une famille qu'ils nomment les Zooxanthellidæ. **Hovasse** et **Teissier** ont d'ailleurs fait remarquer que ce groupe renferme des formes pouvant présenter des différences spécifiques ou mêmes génériques, différences portant sur la taille, la nature de la membrane, la localisation des pigments (présence ou absence de chromatophores), la cinèse, la nature des enclaves, la présence ou l'absence de formes flagellées, etc.

Les Xanthelles d'*Æ. glauca* diffèrent de celles qui ont été décrites par la constitution de leur noyau qui comprend un nombre constant de granulations chromatiques et par la formation de trois chromosomes à la prophase. Le noyau est dépourvu de canaux intranucléaires, canaux qui existent chez *Zooxanthella Chattoni* (**Hovasse**); pendant la cinèse, il n'y a pas formation de plaque intermédiaire à l'anaphase comme cela a lieu chez *Cryptomonas Brandti* (**Schau-dinn**). Le pyrénolide et les grains de volutine n'ont été signalés chez aucune autre Xanthelle où il est possible que ces formations seront observées également lorsqu'on les y recherchera avec méthode. Quoi qu'il en soit, les Xanthelles d'*Æ. glauca* ont un noyau et une cinèse de Péridinien; je ne puis donc que me rallier aux vues de **Hovasse** et de **Teissier** concernant la position systématique des Xanthelles.

CHAPITRE IV

CELLULES NÉMATOPHAGES¹

HISTORIQUE

On sait que la plupart des Éolidiens possèdent à l'extrémité distale de leurs papilles un sac cnidophore tapissé par un épithélium dont les cellules appelées nématoblastes ou cellules nématophages, renferment des nématocystes. Ce sac communique d'une part avec

1. Synonymes : Nématoblastes = cnidoblaste = Cellule nématogène = cellule nématophage.

Sac cnidophore = cnidosac.

l'extérieur par un pore situé à l'extrémité de la papille et d'autre part avec le cæcum hépatique par un petit canal appelé canal cilié.

La description des sacs cnidophores a été faite par de nombreux auteurs : **Trinchese** (1881), **Vayssièr**e (1889), **Herdman** (1892), **Hecht** (1896), **Glaser** (1903-1910), **Cuénot** (1906), **Naville** (1926).

Un point a surtout retenu l'attention des zoologistes : l'origine des nématocystes. Cette origine a été interprétée de deux façons : pour les uns, les nématocystes appartiennent en propre aux Nudi-branches, ils se forment dans les nématoblastes; pour les autres, ils proviennent des proies coelentériennes ingérées.

Bergh (1861), **Vayssièr**e (1889), **Herdman** (1892), **Davenport** (1893), **Hecht** (1896), **Krembrow** (1902), ont soutenu l'origine endogène des nématocystes. L'origine exogène a été défendue par **Wright** (1858), **Grosvenor** (1903), **Glaser** (1903-1910), **Abrie** (1904), **Cuénot** (1906), **Naville** (1926), **Komori** (1932). D'après les travaux de ces auteurs et tout particulièrement les recherches précises de **Cuénot**, on doit considérer comme définitivement acquis, que les nématocystes adultes des Éolidiens proviennent des Coelentérés dont ils se nourrissent. **A. Labbé** (1923) a admis que chez *Æolidiella glauca* et *Æolidiella croisicensis*, il y avait deux sortes de nématocystes : les nématocystes éolidiens qui prendraient naissance dans le sac cnidophore des papilles de la collerette, et les nématocystes coelentériens ayant pour origine les Coelentérés ingérés. Cet auteur a décrit les diverses phases de la cnidogénèse. Les nématocystes se forment aux dépens des vacuoles situées au-dessus du noyau. La première ébauche consiste dans l'apparition, à l'intérieur d'une vacuole, de deux sphérules acidophiles entre lesquelles s'introduisent des granulations basophiles dont la soudure en un fuseau allongé serait le premier stade du filament urticant. La paroi des vésicules devient basophile et formera la capsule du nématocyste adulte. J'ai observé (1925) aussi ces vacuoles dans les nématoblastes des papilles cervicales des *Æolidiella* et de *Cuthona aurantiaca*, et j'ai interprété la présence de granulations et de bâtonnets colorables par le dahlia et le violet de gentiane comme représentant la première ébauche du filamant urticant. **Henneguy** (1925) affirme également qu'il y a dans certains cnidophores, des cnidoblastes renfermant des nématocystes à tous les stades de formation depuis de

simples vésicules avec une partie centrale plus dense, jusqu'à des nématocystes mûrs. **Naville** (1926) a étudié les cellules nématophages et les nématocystes d'*Æ. alderi*, il n'a jamais vu de figures de nématogénèse, confirmant ainsi ce qu'avaient déjà signalé **Grosvenor**, **Cuénot** et **Glaser**.

Davenport, **Hecht** et **Krembrow** ont établi que la génèse du sac cnidophore se fait à partir de la portion distale du diverticule hépatique et qu'il existe une zone de croissance dans la partie proximale du cnidosac. **Glaser** a signalé aussi la présence de cette zone de prolifération et a montré qu'il y a différenciation des cellules nématophages depuis la portion proximale du sac jusqu'à son extrémité distale. Dans les sacs adultes, les cellules nématophages parvenues à l'extrémité du cnidosac se détachent de la basale et sont expulsées au dehors (**Grosvenor**, **Cuénot**, **Glaser**).

Grosvenor, **Glaser**, **Eliot** ont constaté que les cellules nématophages adultes sont plus ou moins dégénérées. D'après **Abrie** (1904), la cellule nématophage se nourrirait par osmose de la substance intérieure du nématocyste, ce qui expliquerait à la fois que sa vitalité augmente et que les nématocystes deviennent non fonctionnels avec le temps.

Grosvenor a constaté que les nématoblastes jeunes ont une extrémité nue et amiboïde par laquelle ils capturent les nématocystes, tandis que les nématoblastes adultes sont entourés d'une membrane résistante. **Naville** a signalé aussi que les cellules nématophages jeunes ont une extrémité mal définie. Avec la technique de **Regaud**, il a observé des granulations dans la partie moyenne de ces cellules, mais il ne peut affirmer si ce sont des mitochondries. **A. Labbé** a décrit les cnidosacs et les cnidoblastes des papilles cervicales des *Æolidiella* (*croisicensis* et *glauca*). Les cnidoblastes sont des cellules d'apparence caliciforme, cylindrofusiforme et longues de 150 à 200 μ , elles se terminent du côté basal par une pointe effilée. La base renferme le noyau sphérique entouré d'un cytoplasme granuleux basophile, au-dessus, tout le reste de la cellule forme une thèque oblongue entourée d'une membrane résistante et renfermant un liquide acidophile et coagulable. A l'extrémité de la cellule, il y a sept ou huit nématocystes de même taille, plus petits que les nématocystes adultes. L'auteur a remarqué que l'aspect de la cellule est différent,

in vivo, ou après l'action des fixateurs : après fixation, la thèque est remplie de sphérules irrégulières, *in vivo*, la thèque est remplie d'un liquide réparti dans de nombreuses vacuoles surtout du côté basal. C'est aux dépens de ces vacuoles que se formeraient les nématocystes. **A. Labbé** ne peut affirmer si les granulations basophiles, première ébauche du filament urticant, sont des mitochondries.

RECHERCHES PERSONNELLES

En somme, si l'on a bien étudié l'histologie des sacs cnidophores, la cytologie a été, au contraire, négligée; on peut même dire que la cytologie fine des nématoblastes n'a pas été faite, on n'a jamais employé les techniques convergentes mettant en évidence les constituants morphologiques du cytoplasme. J'insisterai ici sur la cytologie des nématoblastes des papilles cervicales de *Æ. glauca* et cette étude m'entraînera à parler aussi de l'origine des nématocystes et de l'évolution des nématoblastes.

a) *Observations vitales.*

1° *Sans coloration.* — Lorsqu'on place une papille cervicale dans une goutte d'eau de mer entre lame et lamelle, le cnidosac projette des nématoblastes dont la longueur est très variable : 60 à 200 μ . Dans chaque cellule, le cytoplasme de la thèque est occupé par des boules plus réfringentes que le cytoplasme de la région basale, là où est le noyau. Ces boules sont le plus souvent parfaitement sphériques, parfois cependant elles sont un peu irrégulières. Tantôt elles se touchent, tantôt elles sont légèrement écartées les unes des autres. Elles peuvent être de même taille, ou bien elles sont de dimensions différentes et alors les plus petites se trouvent le plus souvent à la base ou à l'extrémité de la thèque.

2° *Coloration au rouge neutre.* — La coloration vitale au rouge neutre met en évidence des vacuoles colorées *in toto*, correspondant aux *vacuoles plasmocrines* de **Renaut**; elles sont situées un peu au-dessus du noyau, toujours peu nombreuses, et beaucoup de nématoblastes en sont dépourvus. Dans aucun nématoblaste, on ne

trouve de grain envacuolé, autrement dit, il n'y a aucune vacuole homologable aux *vacuoles rhagiocrines* de **Renaut**. Les boules réfringentes signalées précédemment ne se colorent pas par le rouge neutre. Il n'y a aucune image montrant une filiation entre les vacuoles plasmocrines et ces petites boules.

3° *Coloration au vert Janus*. — Le vert Janus montre un beau chondriome en forme de corbeille située au-dessus du noyau. Il est formé par des mitochondries et des chondriocotes, ces derniers présentent des figures d'altération : chondriocotes renflés aux extrémités, mitochondries agrégées en files, etc. Le fait important à souligner, fait sur lequel je reviendrai au moment de la discussion des résultats, c'est que les mitochondries et les chondriocotes ne sont jamais intravacuolaires, tout au plus voit-on des mitochondries ou des chondriocotes accolés aux vacuoles. Dans le cytoplasme basal, on trouve des mitochondries et des chondriocotes répartis d'une façon quelconque.

Il faut remarquer que les descriptions précédentes se rapportent à des nématoblastes rejetés par le cnidosac, donc à des nématoblastes adultes, les jeunes nématoblastes et les cellules non différenciées restant en effet attachées à la musculature du sac cnidophore.

Dans l'eau de mer, avec ou sans réactif coloré, les nématocystes éclatent facilement.

b) *Observations sur coupes*.

1° *Fixateurs acides*. — Après fixation au Brasil, au Zenker, ou au Bouin-Hollande, et coloration au Giemsa ou au panchrome de Laveran, le nématoblaste adulte se montre divisé en deux régions bien différentes (fig. 19, *d*). La base est formée d'un cytoplasme filamenteux coloré en bleu violacé ou en violet rosé, donc basophile ou métachromatique (**A. Labbé**). Cette structure filamenteuse correspond probablement à ce qui a été décrit dans d'autres éléments sous le nom d'*ergatoplasme*. C'est dans cette partie que se trouve le noyau, volumineux, sphérique, à membrane plus ou moins nette, et renfermant un énorme nucléole, la chromatine étant accumulée à la périphérie. Un peu au-dessus du noyau, le cytoplasme basophile se termine en forme de coupe. Tout le reste de la cellule est occupé

par un cytoplasme coloré en rose, donc acidophile. Ce cytoplasme n'est pas homogène : il renferme en effet des masses irrégulières plus ou moins écartées les unes des autres. A l'extrémité de la cellule se trouvent quelques nématocystes qui, sous l'action du fixateur, se sont dévaginés : ils sont colorés en violet rougeâtre et présentent de fines granulations dans leur capsule et leur filament.

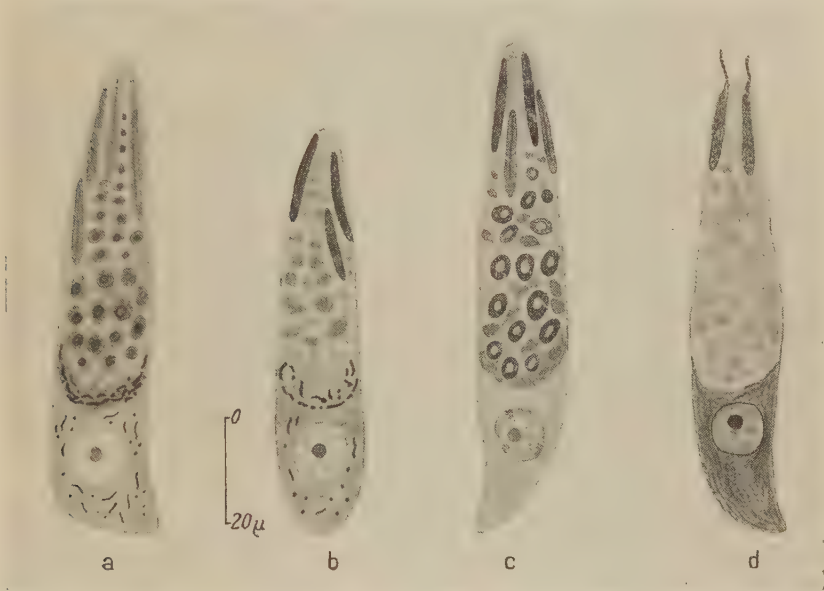


FIG. 19. — Nématoblastes adultes des papilles cervicales d'*Æ. glauca*.
Dégénérescence vitreuse du cytoplasme.

a, techn. Benoit; *b*, techn. Dietrich-Parat-Valkonsky; *c*, *d*, fixation au Bouin-Hollande;
c, coloration au Mallory; *d*, coloration au Giemsa.

Avec les mêmes fixateurs et coloration au Mallory, on peut obtenir des images analogues : le cytoplasme basal est alors coloré en rouge, la thèque en bleu, les nématocystes ont une coloration variant du rouge à l'orangé. Il arrive aussi que le cytoplasme de la thèque présente une structure différente de celle qui vient d'être décrite. Le cytoplasme renferme des boules régulières intensément colorées en bleu foncé, ovoïdes ou sphériques, à contours généralement nets et présentant une partie centrale sphérique ou ovoïde colorée en orangé (fig. 19, *c*). Plus ou moins nombreuses, tantôt elles sont mêlées

aux masses irrégulières signalées précédemment et qui, elles, sont colorées en bleu clair, et tantôt elles occupent presque tout le cytoplasme. Elles peuvent être toutes sensiblement de même taille, et souvent aussi de grosseur différente, alors les plus grosses sont fréquemment situées vers le centre de la thèque, tandis que les plus petites se trouvent à la base et surtout à l'extrémité de celle-ci. Toutes ces boules, ainsi que les masses irrégulières, sont bien visibles avec l'hématoxyline au fer, retenant énergiquement ce colorant et il faut pousser très loin la différenciation pour les mettre en valeur. Il faut noter qu'elles ne sont pas envacuolées.

Les jeunes nématoblastes qui, comme on sait, se trouvent dans la partie proximale du sac cnidophore, se distinguent des nématoblastes adultes, non seulement par leur taille plus réduite, mais encore par leur cytoplasme entièrement basophile et homogène, parfois granuleux cependant, et par leur noyau plus petit. Les cellules indifférenciées situées près de l'orifice de communication du cnidosac et du cæcum hépatique, ont aussi un cytoplasme homogène et basophile; leur noyau est encore plus petit, la membrane nucléaire est bien nette, les grains de chromatine sont répartis dans tout le nucléoplasme. On observe parfois des mitoses.

On passe insensiblement de ces cellules indifférenciées et cubiques aux cellules de plus en plus nettement cylindriques, c'est-à-dire aux nématoblastes. Les cellules de la portion proximale du sac sont mal délimitées, elles forment un véritable syncytium. Cette région correspond à la zone de prolifération de **Glaser**. Les nématoblastes adultes ont toujours une membrane bien nette et assez résistante.

On observe aussi des termes de passage entre les jeunes nématoblastes à protoplasme basophile et les nématoblastes plus développés situés plus près de l'extrémité distale du sac et présentant une thèque acidophile. Ces termes de passage sont représentés par des cellules à protoplasme basophile dans lequel apparaissent au-dessus du noyau quelques masses irrégulières acidophiles; celles-ci deviennent de plus en plus nombreuses et finissent par occuper tout le cytoplasme situé au-dessus du noyau, région qui devient alors la thèque du nématoblaste. Les boules régulières et acidophiles apparaissent ensuite.

Tout ce qui précède concerne un sac cnidophore adulte. Dans les très jeunes cnidosacs, toutes les cellules sont basophiles. La *figure 20* représente la coupe un peu oblique d'un jeune sac. On voit nettement la zone de prolifération formée par un syncytium renfermant de nombreux noyaux, à la partie proximale les nématoblastes sont



FIG. 20. — Jeune cnidosac d'une papille antérieure (*Æ. glauca*).

p, zone de prolifération; *n*, zone nématophage; *a*, nématoblaste au début de la dégénérescence vitreuse du cytoplasme (fix. Bouin-Hollande, color. au Giemsa).

bien délimités et possèdent un gros noyau pourvu d'un énorme nucléole. Des termes de passage existent entre ces deux régions. On remarque que dans un nématoblaste (*a*) de la région proximale apparaissent quelques sphérules irrégulières acidophiles. Des cellules possédant cette structure deviennent de plus en plus nombreuses à mesure que le cnidosac se développe.

2° *Technique mitochondriales.* — J'ai utilisé la technique de Dietrich-Parat-Volkonsky et le B. O. S. U. suivi de la coloration à la fuchsine-aurantia. Le Regaud ne m'a jamais donné de bons résultats. Les techniques mitochondriales montrent dans le néma-

toblaste adulte, un chondriome supranucléaire en forme de corbeille. Ce chondriome marque la limite entre la thèque et le cytoplasme basophile basal (fig. 19, *a* et *b*). Il est formé par des mitochondries et des chondriocontes flexueux souvent altérés, et correspond à une zone de Golgi, mais à une zone de Golgi incomplète : on y observe bien parfois des vacuoles réservées en clair, homologues aux *vacuoles plasmocrines*, mais avec le Soudan III ou l'hématoxyline de Kultschitzky, il est impossible de mettre en évidence des lipoides diffus, cette zone est cependant un peu fuchsinophile comme c'est généralement la règle pour une zone de Golgi typique. Le cytoplasme périnucléaire possède des mitochondries et des chondriocontes.

Les techniques mitochondriales donnent, en ce qui concerne le contenu de la thèque, des images semblables à celles obtenues avec les techniques histologiques ordinaires. Le cytoplasme de la thèque renferme des masses irrégulières séparées les unes des autres colorées d'une façon un peu plus intense que le reste du cytoplasme (fig. 19, *b*) elles sont jaunâtres ou d'un jaune rougeâtre. On observe aussi, dans certaines nématoblastes adultes, des boules régulières présentant une partie centrale légèrement fuchsinophile (fig. 19, *a* et fig. 21, *d*); le B. O. S. U. les met particulièrement bien en évidence. Boules et masses irrégulières sont homologues des formations de même aspect vues avec les techniques histologiques ordinaires, et correspondent aussi aux boules réfringentes décelées par les observations vitales.

Les boules régulières, avec leur partie centrale fuchsinophile, font penser à des boules de sécrétion; mais elles ne sont jamais envacuolées et, de plus, il n'y a aucun terme de passage entre elles et les vacuoles réservées en clair de la zone de Golgi, pas plus qu'il n'y a de terme de passage entre elles et les éléments du chondriome. Nous verrons plus loin qu'elle est leur signification.

Les jeunes nématoblastes (fig. 21, *b*) ont un cytoplasme homogène, leur chondriome supranucléaire ne forme pas de corbeille, mais rappelle celui des cellules hépatiques : il est formé par des mitochondries et des chondriocontes orientés parallèlement à l'axe de la cellule; les vacuoles sont rares; le cytoplasme périnucléaire renferme des mitochondries et des chondriocontes qui sont, comme dans les nématoblastes adultes, répartis d'une façon quelconque.

Les cellules non différenciées ont un chondriome non polarisé (fig. 21, a).

3^o *Techniques d'imprégnation métallique.* — Les imprégnations osmiques donnent des images comparables à celles obtenues avec les

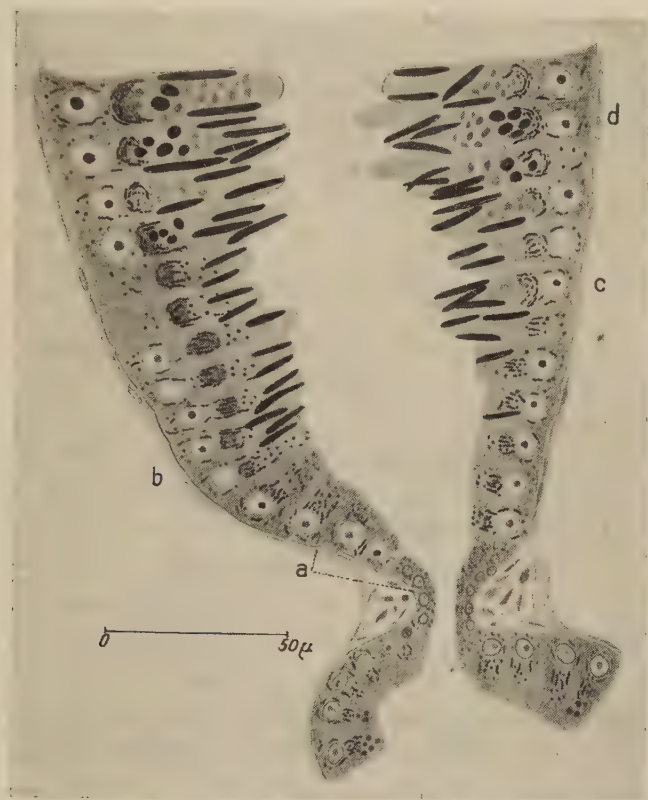


FIG. 21. — Sac endophore adulte d'une papille antérieure la portion distale n'est pas représentée (*A. glauca*).

a, zone de prolifération; b, jeunes nématoblastes; c, zone nématophage; d, nématoblaste adulte (techn. Dietrich-Parat-Valkonsky).

techniques mitochondriales. Le chondriome de la zone de Golgi est seul imprégné, les chondriocontes ne présentent pas le phénomène de *pachynèse* que l'on observe souvent dans une zone de Golgi typique (M. Parat). Les imprégnations argentiques intéressent parfois le chondriome supranucléaire, le plus souvent celui-ci n'est pas imprégné. Parfois on observe dans la zone de Golgi, des grains

noircis (dictyosomes) ces grains correspondent aux *vacuoles plasmocrines*. Les imprégnations argentiques donnent pour le cytoplasme de la thèque des images assez inattendues mais cependant faciles à interpréter. Le cytoplasme est divisé en masses protoplasmiques irrégulières à peine teintées, mais elles sont séparées les unes des autres par un liséré bien imprégné, de telle sorte que la thèque prend l'aspect d'une mosaïque. Ces masses cytoplasmiques correspondent à celles observées avec les techniques précédentes. Quant aux boules régulières, elles sont un peu noircies et se montrent non envacuolées; ici encore il n'y a pas de terme de passage entre elles et les dictyosomes.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS.

Chez *Æ. glauca*, les nématoblastes adultes des papilles de la collerette sont caractérisés par leur cytoplasme divisé en deux parties, une partie basale, basophile, renfermant le noyau, et une thèque acidophile (A. Labbé). Le chondriome de ces nématoblastes est polarisé, il forme deux groupes : le *chondriome périnucléaire* et le *chondriome supranucléaire*. Ce dernier est en forme de corbeille et marque la limite entre la thèque et le cytoplasme basal; il représente une zone de Golgi constituée par des mitochondries et des chondriocontes souvent altérés, il y a parfois des vacuoles, mais pas de lipoïde diffus, les chondriocontes ne sont pas « pachynétiques » et cette zone ne donne naissance à aucune enclave. C'est donc une zone de Golgi incomplète et non fonctionnelle.

Dans les jeunes nématoblastes, le chondriome est encore polarisé et forme deux amas, un amas supranucléaire et un amas périnucléaire, la polarité n'étant pas toujours bien nette : on peut observer aussi des mitochondries au pôle apical de la cellule. L'amas supranucléaire est encore ici comparable à une zone de Golgi non fonctionnelle : il est caractérisé par ses chondriocontes orientés parallèlement à l'axe de la cellule. Dans les éléments non différenciés de la base du cnidosac, le chondriome n'est pas polarisé. Il existe des termes de passage entre ces diverses cellules du sac cnidophore. Ainsi donc, en même temps que les cellules de la zone de prolifération se différencient pour donner naissance aux nématoblastes,

dont les plus anciennement formés sont placés au pôle apical du cnidosac, le chondriome subit une évolution : ses éléments deviennent plus nombreux et lui-même devient de plus en plus nettement polarisé, il se forme ainsi un groupe de chondriosomes périnucléaires et un amas supranucléaire, homologue d'une zone de Golgi, mais d'une zone de Golgi non fonctionnelle.

Cette transformation progressive du chondriome n'est pas le seul phénomène cytologique que l'on observe au cours de la différenciation des nématoblastes. L'évolution du chondriome va en effet de pair avec des modifications du noyau et du cytoplasme.

A mesure que les cellules augmentent de taille et gagnent le pôle supérieur du cnidosac, le noyau et son nucléole grossissent de plus en plus et atteignent leur taille maxima dans les nématoblastes adultes. Les grains de chromatine tendent à se grouper à la périphérie du noyau et perdent un peu leur affinité pour l'hématoxyline au fer, la membrane nucléaire devient moins nette et il arrive même qu'elle disparaisse, les grains de chromatine étant alors mis en liberté dans le cytoplasme. Ces phénomènes de dégénérescence nucléaire (pynose, caryorhexis et chromatolyse), s'observent dans les nématoblastes adultes et aussi dans les nématoblastes ayant encore un cytoplasme basophile, mais dans lequel apparaissent les premières sphérules acidophiles.

Quant au cytoplasme, il subit lui aussi des modifications importantes; homogène et basophile dans les cellules de la zone de prolifération et dans les jeunes nématoblastes encore mal délimités, il se divise en deux régions, une basale qui reste basophile et une terminale qui devient acidophile dans les nématoblastes plus évolués. Dans cette partie acidophile apparaissent des masses irrégulières et des boules régulières. Celles-ci n'existent pas dans tous les nématoblastes adultes, en tout cas, elles n'apparaissent qu'après la formation des sphérules irrégulières.

Que représentent alors ces inclusions, qui, comme nous l'avons vu, n'ont aucun rapport avec les constituants morphologiques du cytoplasme (vacuome et chondriome). Leur affinité pour les colorants plasmatiques et l'hématoxyline au fer, leur forte réfringence, leur apparition au sein du cytoplasme dans une cellule dont le noyau et le chondriome sont plus ou moins altérés, constituent

autant de faits qui permettent d'affirmer qu'il s'agit d'une dégénérescence du cytoplasme, dégénérescence que l'on peut rapprocher de la nécrobiose vitreuse.

Une telle évolution cytologique des cnidoblastes n'a jamais été signalée. Cependant **Henneguy** (1925) a observé une dégénérescence vitreuse du cytoplasme des cnidoblastes dans certaines papilles antérieures de quelques exemplaires de *Favorinus albus*, *Facelina punctata* et *Cuthona aurantiaca*, tandis que dans d'autres exemplaires de ces trois espèces, cette dégénérescence n'existait pas. Il a constaté que la dégénérescence du cytoplasme se traduit par la présence de masses réfringentes dont le centre retient les colorants plus fortement que le reste; ce phénomène entraîne la dégénérescence des cnidocystes et, en somme, il y a dégénérescence de tout le cnidosac. Mais ce savant n'a pas suivi les diverses étapes de la différenciation cytologique des cnidoblastes.

Chez *Æ. glauca*, la dégénérescence vitreuse n'est pas un phénomène exceptionnel : elle atteint tous les nématoblastes adultes de la collerette, mais elle n'amène pas celle des nématocystes qui éclatent toujours facilement dans de l'eau de mer ou les réactifs. Il y a parfois des anomalies dans le développement des cnidosacs, on peut en trouver dans lesquels la zone de prolifération n'existe plus, tous les nématoblastes ayant acquis la structure des nématoblastes adultes.

La dégénérescence des nématoblastes adultes est un phénomène général : on l'observe aussi dans les papilles dorsales d'*Æ. glauca*, mais ici il n'y a pas nécrobiose vitreuse, le noyau dégénère et le cytoplasme devient vacuolaire (**Grosevenor**, **Glaser**, etc.).

L'étude cytologique des nématoblastes me permet aussi d'affirmer qu'il n'y a pas de cnidogénèse chez les Éolidiens. Les granulations libres ou soudées et les filaments observés à la base de la thèque ne peuvent pas être considérés comme représentant le premier stade de la formation du filament urticant. Ces formations qui sont des éléments de la zone de Golgi, ne sont en effet jamais intravacuolaires. Mais il y a plus : l'emploi des techniques les plus variées m'a apporté la certitude qu'il n'y a dans les nématoblastes des papilles antérieures d'*Æ. glauca*, comme formations pouvant se rapprocher des premiers stades d'une cnidogénèse, que les boules

régulières acidophiles décrites précédemment; or, entre celles-ci et les nématocystes adultes situés à l'apex de la cellule, il n'y a aucun terme de passage (fig. 19, *a* et *c*). Ces boules représentent en réalité la dernière phase de la nécrobiose vitreuse du cytoplasme, il faut donc reconnaître sans ambages qu'il n'y a pas de nématocystes éolidiens.

L'évolution des nématoblastes est alors facile à comprendre. On peut distinguer trois régions dans le sac cnidophore : près de l'orifice de communication du sac cnidophore et des cæcums hépatiques se trouve une zone de prolifération (fig. 20, *p* et fig. 21, *a*), plus haut, une zone nématophage (fig. 20, *n* et fig. 21, *b*), et au-dessus les nématoblastes se rapprochant de plus en plus du stade adulte (fig. 21, *d*). Évidemment, il n'y a pas de limite tranchée entre ces trois régions qui sont reliées par de nombreux termes de passage. Les nématocystes coelentériens sont capturés par les cellules de la zone nématophage et aussi, parfois par les cellules basses de la zone de prolifération. Lorsque ces cellules ont reçu un certain nombre de nématocystes, en général six à huit, elles perdent leur propriété macrophage et présentent alors une membrane bien nette, et les signes de dégénérescence du noyau, des chondriocontes et du cytoplasme apparaissent et s'accroissent de plus en plus. Les cellules gagnent peu à peu le pôle apical du cnidosac, se détachent de la musculature et sont expulsées.

On doit donc considérer la dégénérescence du nématoblaste comme étant la conséquence de la présence des nématocystes et l'opinion d'**Abric** (1904) considérant l'augmentation de l'affinité chromatique des cellules nématophages après la capture des nématocystes comme une preuve de l'augmentation de la vitalité cellulaire, n'est pas soutenable.

Il faut noter, qu'au cours de la différenciation des cellules nématophages, la fonction macrophage de ces cellules s'accroît progressivement jusqu'au moment où les cellules s'entourent d'une membrane : les cellules les plus basses de la zone de prolifération sont en effet exemptes de nématocyste (fig. 20, *p* et 21, *a*), elles ne sont pas encore capables de les capturer; à mesure qu'elles grandissent elles deviennent aptes à capturer d'abord les petits nématocystes, puis

les nématocystes de grande taille; dans les grandes cellules de la zone nématophage, on observe souvent un mélange de nématocystes de taille variable comme d'ailleurs dans les nématoblastes adultes. D'après **Naville** (1926), dans les sacs adultes d'*Æ. alderi*, il y a au contraire une augmentation assez régulière de la taille des nématocystes, depuis la portion proximale du sac jusqu'à la portion distale. Pour expliquer ce fait, **Naville** a émis l'hypothèse que les nématocystes une fois captés par les cellules nématophages sont encore susceptibles de s'accroître. Je ne peux pas discuter cette hypothèse puisque je n'ai pas étudié les sacs d'*Æ. alderi*; en tout cas, chez *Æ. glauca*, je n'ai pas observé qu'il y ait une augmentation régulière de la taille des nématocystes; ce qui est net c'est l'augmentation de la fonction macrophage des cellules. *A priori*, il me paraît extraordinaire que la cellule nématophage puisse élaborer, comme le nématoblaste coelentérien, des produits permettant l'accroissement d'un nématocyste *étranger* qui, de plus, comme l'a dit **Weill** (1934) est un élément *mort*.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Ce travail permet de tirer des conclusions suivantes :

1° Le tissu hépatique d'*Æ. glauca* comprend quatre sortes d'éléments : les xanthinocytes, les cellules vacuolaires, les cellules hépatiques et les cellules indifférentes.

2° Les xanthinocytes ont un chondriome formé de mitochondries et de chondriocontes; le vacuome comprend des vacuoles, le plus souvent supranucléaires. Il n'y a pas de zone de Golgi. Les xanthinocytes élaborent des sphérocristaux de xanthine qui sont ensuite rejetés dans la lumière des cæcums hépatiques puis à l'extérieur. Il y a un cycle sécrétoire. Souvent la cellule dégénère.

La xanthine est un produit d'excrétion d'origine endogène.

Les sphérocristaux sont formés d'un grand nombre de minuscules sphérules de xanthine disposées en files radiales et en couches concentriques. Ils possèdent un substratum organique vacuolaire. Leur centre de formation semble bien se constituer aux dépens des éléments du vacuome. L'accroissement du sphérocristal se fait en deux temps : formation de petites vacuoles périphériques, puis cristallisation de la xanthine à l'intérieur de celles-ci.

3° Les cellules vacuolaires ont un chondriome et un vacuome non polarisés, il n'y a pas de zone de Golgi. Elles élaborent des granulations lipoïdiques; celles-ci sont rejetées dans la lumière du cæcum hépatique, puis à l'extérieur. Il y a un cycle sécrétoire. Parfois la cellule dégénère. Les granulations lipoïdiques sont des produits d'excrétion d'origine endogène. Elles se forment aux dépens des éléments du vacuome.

4° La cellule hépatique est caractérisée par la polarisation de son chondriome et de son vacuome. Le chondriome *ordinaire* (**M. Parat**) forme deux amas : un amas basal et un amas apical. La zone de Golgi comprend : le vacuome, le *chondriome actif*, des lipoïdes diffus (**M. Parat**). Aux dépens du vacuome se forment des boules de sécrétion (ferments). Il y a un cycle sécrétoire.

5° La cellule hépatique accomplit plusieurs fonctions : sécrétrice, absorbante, de réserve, phagocytaire des particules solides (encre de Chine et grains de carmin) mélangées à la nourriture, de digestion intracellulaire. C'est aussi dans les cellules hépatiques que vivent et se multiplient les Xanthelles.

6° L'extrait diastasique, obtenu après broyage des papilles (*Æ. glauca*) et filtration, renferme une diastase protéolytique, une lipase et une amylase. Les deux premières sont très actives. La diastase protéolytique transforme la fibrine jusqu'au stade acides aminés (tryptophane et tyrosine); elle a un optimum d'action dans la zone acide (pH 5,7 à 6,8).

7° Chez les Éolidiens, il y a digestion extracellulaire et digestion intracellulaire, le premier processus est de beaucoup le plus important.

8° Les Xanthelles d'*Æ. glauca* possèdent les principaux caractères suivants : une membrane cellulosique, un pyrénôïde, un noyau (*dinocaryon*) formé d'une vingtaine de granulations (chromomères), des pigments carotinoïdes et de la chlorophylle α répandus dans tout le cytoplasme. Celui-ci renferme des produits du métabolisme : grains d'amidon (ou une substance voisine), des granulations métachromatiques, des globules de graisse, des corpuscules biréfringents formés d'acide urique (ou une substance voisine).

La cinèse est une *dinomitose* caractérisée par la formation de trois chromosomes orientés presque parallèlement et qui se scindent transversalement à la métaphase.

9° Les Xantheselles d'*Æ. glauca* ont la même structure que celles de *Cylista undata* Müll. On peut facilement contaminer les Éolidiens en les nourrissant de morceaux de cette Actinie.

10° L'association des Xantheselles et de l'Éolidien n'est pas une parfaite symbiose; tous les Éolidiens (*Æ. glauca*) ne sont pas contaminés, de plus, lorsqu'ils le sont, ils digèrent leurs Xantheselles en cas de famine.

11° Dans les sacs cnidophores des papilles de la collerette d'*Æ. glauca*, la différenciation progressive des cellules nématophages aboutit à la formation de cellules de grande taille ayant perdu leur propriété macrophage et dans lesquelles apparaissent des phénomènes de dégénérescence portant sur le noyau, le chondriome et le cytoplasme (nécrobiose vitreuse).

Le chondriome est polarisé. Quel que soit l'âge de la cellule, la zone de Golgi ne forme aucune enclave; elle est d'ailleurs incomplète dans ce sens qu'elle ne possède pas de lipoïde diffus; souvent aussi les vacuoles n'existent pas.

La dégénérescence des cellules nématophages adultes est un phénomène normal; elle est la conséquence de la présence des nématocystes.

L'étude de la cytologie fine des nématoblastes montre qu'il n'existe pas de formations devant être interprétées comme des stades d'une cnidogénèse.

Index bibliographique.

- ABRIC, 1904. — Sur les nématoblastes et les nématocystes des Éolidiens. *C. R. Soc. Biol.*, t. 57.
- 1904. — Les cellules agglutinantes des Éolidiens. *C. R. Acad. Sc.*, t. 139.
- AGASSIZ, 1883. — Exploration of the Surface Fauna of the Gulf-Stream under the auspices of the Coast-Survey. The Porpitidae and Velellidae. *Mém. Mus. Harvard College*. Vol. 8.
- ALDER and HANCOCK, 1815-1855. — A Monograph of the British Nudibranchiate Mollusca. *Ray Society*, Parts I-VIII.
- ALVARADO S., 1934. — Zooxantelas, ficocitos y colocitos en la medusa *Cassiopea borbonica*. *Rev. esp. de Biol.*, t. 3.
- BARFURTH D., 1883. — Ueber den Bau und die Thätigkeit der Gasteropodenleber. *Arch. f. mikr. Anat.*, t. 22.
- 1885. — Vergleichend-Histochemische Untersuchungen über das Glycogen. *Arch. f. mikr. Anat.*, t. 25.
- BERGH R., 1862. — On the existence of urticating Filaments in the Mollusca. *Microsc. Journ.*, vol. 2.
- 1864. — Anatomiske Bidrag til Kundskale om Aelidierne. *Kgl. San Danske Vidensk. Selsk.*, t. 6.

- BERGH R., 1873-1888. — Beiträge zur Kenntniss der Aeolidiaden. *Verh. Zool. Bot. Gesellsch. Wien*, t. 23-38.
- 1890. — Die Cladohepatischen Nudibranchien. *Zool. Jahrbuch Systematik*, 5.
- BOSCHMA, 1925. — The Nature of the Association between Anthozoa and Zooxanthellae. *Proc. of the Nat. Acad. of Sc. U. S. A.*, vol. 11.
- BRANDT K., 1883. — Über die Morphologische und Physiologische Bedeutung des Chlorophylles bei Thieren. *Mith. Zool. Stat. Neapel*, t. 4.
- 1885. — Die Kolonienbildenden Radiolarien des Golfes von Neapel. *Flora u. Fauna*, t. 13.
- BUCHNER, 1921. — Tier und Pflanze in intracellulärer Symbiose. Berlin.
- BURIAN, 1924. — Die Excretion. *Handbuch der vergleichenden Physiologie*, II, 2. Hälfte.
- CAULLERY M., 1922. — Le parasitisme et la symbiose. Paris, Doin.
- CHATTON, 1920. — Les Péridiniens parasites. Morphologie, Reproduction, Éthologie *Arch. Zool. exp. et gén.*, t. 59.
- 1925. — Pansporella perplexa, amœbien à spores protégées, parasite des Daphnies. Réflexions sur la biologie et la phylogénie des Protozoaires. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, t. 8.
- COLIN H., 1931. — Les Diastases, t. 1 : Les Hydrolases. Paris, Doin.
- CUÉNOT, 1892. — Études physiologiques sur les Gastéropodes pulmonés. *Arch. Biol.*, t. 12.
- 1899. — L'excrétion chez les Mollusques. *Arch. Biol.*, t. 16.
- 1906. — Les Éolidiens empruntent leurs nématocystes aux Cœlentérés dont ils se nourrissent. *C. R. Soc. de Biol.*, t. 61.
- 1907. — L'origine des nématocystes des Éolidiens. *Arch. Zool. exp. et gén.*, t. 6.
- 1907. — Fonction absorbante et excrétrice du foie des Céphalopodes. *Arch. Zool. exp. et gén.*, t. 7.
- 1928. — Les « foies » des Invertébrés. L'excrétion. *Traité de Physiologie normale et pathologique*. Vol. 3, Paris, Masson.
- DAVENPORT, 1893. — On the development of the cerata in *Aeolis*. *Bull. of the Mus. of comp. Zool. et Harvard College*, t. 24.
- DELAUNAY H., 1931. — L'excrétion notée chez les Invertébrés. *Biol. Reviews*. Vol. 6, n° 3. Londres.
- DHÉRE Ch. et FONTAINE M., 1931. — Recherches sur la fluorescence des Algues et de leurs constituants pigmentaires. *Ann. Inst. Océan*, t. 10, fasc. IX.
- ELIOT Ch., 1910. — Supplément à Alder and Hancock. *British Nudibranchiate Mollusca*. Part, 8.
- ENRIQUES P., 1901. — Il fegato dei Molluschi e le sue funzioni. Ricerche prevalentemente microscopiche. *Mitt. Z. Stat. Neapel*, t. 15.
- 1902. — Le foie des Mollusques et ses fonctions. *Arch. ital. de Biol.*, t. 37.
- FAMINTZIN, 1889-1891. — Beiträge zur Symbiose von Algen und Thieren. *Mem. Acad. Saint-Petersbourg*, t. 36 et 38.
- FOSSE, 1913. — Présence de l'urée chez les Invertébrés et dans leurs produits d'excrétion. *C. R. Ac. Sc.*, t. 157.
- FRENZEL J., 1885. — Ueber die Mitteldarmdrüse (Leber) der Mollusken. *Arch. f. mikr. Anat.*, t. 25.
- 1886-1893. — Mikrographie der Mitteldarmdrüse (Leber) der Mollusken. *Nova Acta de K. Leop. Carol. deutsch. Akad. d. Naturforscher*, t. 48 et 60.
- FULTON J. F., 1921. — Concerning the vitality of *Actinia bermudensis*. A study in symbiosis. *Journ. exp. Zool.*, t. 33.
- 1922. — Animal chlorophyll. *Quater. Journ. of micr. sc.*, t. 66.
- GEDDES P., 1882. — On the nature and function of the « Yellow Cells » of Radiolarians and Coelenterates. *Edinburg. Proc. R. Soc.*, t. 11.
- GIAJA J., 1909. — Étude sur les ferments des glucosides et des hydrates de carbone chez les Mollusques et chez les Crustacés. Paris. Thèse de Doctorat.
- GLASER O. C., 1903. — Nematocysts of Nudibranch Mollusca. *Journ. Hopkins Univ. Circ.*, t. 22.
- 1910. — The Nematocysts of Eolids. *Journ. exp. Zool.*, t. 9. 1
- GRAETZ E., 1929. — Ueber einige Verdauungsfermente im Kropfsafte einheimischer Pulmonaten. *Zool. Jahrb., Physiol.*, t. 46. 1
- GROSVENOR P. H., 1903. — On the Nematocysts of Aeolids. *London. Proc. Roy. Soc.*, t. 72.

- GUILLERMOND et MAWAS, 1908. — Caractères histochimiques des granulations de Mastzellen et rapport de ces corps avec la vultine des Protistes. *C. R. soc. Biol.*, t. 64, 1.
- GUILLERMOND, 1910. — A propos des corpuscules métachromatiques ou grains de vultine. *Arch. f. Protist.*, Bd., t. 19.
- GUILLERMOND, 1912. — Recherches sur le mode de formation de l'amidon et sur les plastides des Végétaux. *Arch. Anat. microsc.*, t. 14.
- GUILLERMOND, MANGENOT, PLANTEFOL, 1933. — Traité de Cytologie végétale. Paris. Le François.
- HAECKEL E., 1862. — Die Radiolarien. Berlin.
- HADZI, 1911. — Ueber die Symbiose von Xanthellen und *Halecium ophiodes*. *Biol. Centralbl.*, t. 31.
- HECHT E., 1896. — Contribution à l'étude des Nudibranches. *Mém. Soc. zool. de Fr.*, t. 8 et Paris, Thèse de Doctorat.
- HENNEGUY F., 1925. — Contribution à l'histologie des Nudibranches. *Arch. Anat. micr.*, t. 21.
- HERDMAN W. A., 1892. — On the structure and functions of cerata of dorsal papillae in some Nudibranchiate Mollusca. London. *Quat. Journ. of micr. Sc.*, t. 33.
- HOVASSE R., 1922. — Sur un Périidinien parasite intracellulaire des Velelles. *C. R. Ac. Sc.*, t. 174.
- 1923. — Les Périidiens intracellulaires. *Bull. Soc. zool. Fr.*, t. 48.
- 1923. — Sur les Périidiens parasites des Radiolaires coloniaux. *Bull. Soc. zool. Fr.*, t. 48.
- 1923. — *Endodinium Chattoni*, parasite des Velelles. *Bull. Biol. Fr. et Belg.*, t. 57.
- 1924. — *Zooxanthella Chattoni*. *Bull. biol. Fr. et Belg.*, t. 58.
- HOVASSE et TEISSIER, 1923. — Zooxanthelles et Périidiens. *C. R. Ac. Sc.*, t. 176.
- 1923. — Sur la position systématique des Xanthelles. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, t. 48.
- KEEBLE F. and GAMBLE F. W., 1907. — The origin and nature of the green cells of *Convoluta roscoviensis*. London, *Quart. Journ. of micr. Sc.*, t. 51.
- KOMORI S., 1932. — Origin of the Eolidian nématocysts from the standpoint of regeneration. *Annotations Zool. Japonenses*. Vol. 13, n° 4.
- KREMBZOW E., 1902. — Ueber den Bau und die Entwicklung der Rücken-anhängen bei Eolidiern. *Arch. f. mikr. Anat.*, t. 59.
- KRIJGSMAN, 1929. — Arbeitsrhythmus der Verdauungsdrüsen bei *Helix pomatia*. *Zeitsch. f. vergl. Physiol.*, t. 8.
- KUSKOP M., 1920-1921. — Ueber die Symbiose von Siphonophoren und Zooxanthellen. *Zool. Anz.*, t. 52.
- LABBÉ A., 1923. — La genèse des nématocystes des Nudibranches. *C. R. Ac. Sc.*, t. 176.
- 1929. — Remarques sur les genres *Eolidiella* Bergh, *Spurilla* Bergh et *Berghia* Trinchese. *Bull. Soc. Zool. de Fr.*, t. 54.
- 1931. — Le facteur alimentaire dans la coloration spécifique des Eolidiens. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193.
- LACAZE-DUTHIERS H. de, 1861. — Embryogénie de Rayonnés. Reproduction génétique des Porpites. *C. R. Ac. Sc.* t. 53.
- LIST, 1902. — Die Mytiliden. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*, t. 27.
- MESNIL F., 1901. — Recherches sur la digestion intracellulaire et les diastases des Actinies. Paris. *Ann. Inst. Pasteur*, t. 15.
- MILLOT J., 1926. — Contributions à l'histophysiologie des Aranéides. *Bull. biol. France et Belgique*. Supplément VIII.
- MILOVIDOV P. F., 1928. — Sur les méthodes de double coloration du chondriome et des grains d'amidon. *Arch. Anat. micr.*, t. 24.
- MOUCHET S., 1930. — L'excrétion chez les Actinies. *Station océanographique de Salammbô*, n° 15.
- MÜLLER-CALE K. und KRÜGER E., 1913. — Symbiotische Algen bei *Aglaophenia helleri* und *Sertularella polyzonias*. *Mt. Neapel*, t. 21.
- NAVILLE A., 1925. — Sur la présence d'un Embletonia dans le canal de Caen à la mer; origine exogène de ses nématocystes. *C. R. Ac. Sc.*, t. 181.
- 1926. — Notes sur les Éolidiens. Un Éolidien d'eau saumâtre. Origine des nématocystes. Zooxanthelles et homochromie. *Revue suisse de Zool.*, t. 33, n° 3.

- PARAT M., 1927. — A review of recent developments in histochemistry. *Biol. Reviews*, vol. 2.
- 1929. — Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme, chondriome, vacuome, etc.... *Arch. Anat. micr.*, t. 29.
- PARAT M. et FEYEL P., 1930. — Structure cytologique du rein antennaire (glande verte) de l'Écrevisse. *Arch. Anat. micr.*, t. 26.
- PARAT Marguerite et Maurice, 1930. — Essai d'analyse histochimique et morphologique de la zone de Golgi. *Arch. Anat. micr.*, t. 26.
- PASCHER A., 1911. — Ueber die Beziehungen der Cryptomonaden zu den Algen. *Ber. Bot. Gesell.*, t. 29.
- POTTS F. A., 1923. — The structure and function of the liver of *Teredo*, the shipworm. *Proc. of the Cambridge phil. Soc.*, t. 1.
- REICHENOV E., 1909. — Untersuchungen an *Haematococcus pluvialis* nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. *Arb. Kaiserl. Gesund.*, Bd. t. 33.
- ROUSSEAU Ch., 1927. — Les nématocystes des Éolidiens. *Bull. Soc. Sc. Ouest Fr.*, t. 7.
- 1931. — Sur la présence des Zooxanthelles chez les Éolidiens. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193.
- 1934. — Sur la structure de l'épithélium hépatique des Éolidiens. *C. R. Ac. Sc.*, t. 198.
- SCHAUDINN, 1900. — Untersuchungen über den Generationswechsel von *Trichosphaerium Sieboldi*. *Anh. zu d. Abh. Akad. Berlin*.
- STIASNY, 1910. — Zur Kenntnis der gelben Zellen der Sphärozoen. *Biol. Centralb.*, t. 30.
- SWELLENGREBEL, 1908. — La vultine chez les Trypanosomes. *C. R. Soc. Biol.*, t. 64.
- THIEL M. E., 1929. — Zur Frage der Ernährung der Steinkorallen und der Bedeutung ihrer Zooxanthellen. *Zool. Anz.*, t. 81.
- TRINCHESE S., 1878. — Anatomia e fisiologia della *Spurilla neapolitana*. Bologna. *Mém. Acad. Sc. Ist.*, vol. 9.
- 1877-1879. — Aeolididae e famiglie affini del porto di Genova. *Parte prima. Genova. Atlante, Atti della R. Univ.*
- 1882. — Aeolididae e famiglie affini del porto di Genova. *Parte seconda. Testo e Atlante. Atti del. R. Acad. dei Lincei*, 3, t. 10.
- TURCHINI, 1923. — Contribution à l'étude de l'histologie comparée de la cellule rénale. L'excrétion urinaire chez les Mollusques. *Arch. de Morph. gén. et exp.*, n° 18.
- VAYSSIÈRE A., 1888-1903. — Recherches zoologiques et anatomiques sur les Mollusques. Opisthobranches du golfe de Marseille. Marseille. *Ann. Mus. d'Hist. nat.* vol. 3, 1888, vol. 6, 1901, vol. 8, 1903.
- WEILL R., 1934. — Contribution à l'étude des cnidaires et de leurs nématocystes. Travail du Laboratoire de Wimereux, t. 10 et 11, et Paris, *Thèse de Doctorat*.
- WRIGHT T. S., 1858. — On the cnidæ or thread-cells of the Eolidæ. *Edinburg. Proc. Roy. Soc.*
- 1863. — On the urticating filaments of the Eolidæ. *Quart. Journ. Micr. Sc.*, t. 3.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté.

Le nématocyste — Morphologie — Physiologie.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 14 Octobre 1935.

Pour le Doyen de la Faculté des Sciences,

L'Assesseur,

J. PERRIN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

L. CHARLÉTY

